



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΝΟΣ. ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΚΤΕΛΕΣΗ»**

**MSc: “Clinical Trials: Design and Conduct”**

**Διευθυντής και Επιστημονικός Υπεύθυνος  
Ευάγγελος Τέρπος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ**

**Έκφραση Ιντεγκρινών και συσχέτιση με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του προστάτη: Συστηματική ανασκόπηση βιβλιογραφίας και Μετα-ανάλυση**

**Integrin expression in correlation to clinicopathological features of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis.**

Εμμανουήλ Γιώργος, MSc, PhD

20180648

Μοριακός Βιολόγος - Γενετιστής

Επιβλέπων/ουσα καθηγητής/τρια ΜΔΕ: **Αν. Καθηγήτρια Θ. Ψαλτοπούλου**

**ΑΘΗΝΑ 2020**





**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΝΟΣ. ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ: ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΚΤΕΛΕΣΗ»**

**MSc: “Clinical Trials: Design and Conduct”**

**Διευθυντής και Επιστημονικός Υπεύθυνος  
Ευάγγελος Τέρπος, Καθηγητής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ**

**Έκφραση Ιντεγκρινών και συσχέτιση με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του προστάτη: Συστηματική ανασκόπηση βιβλιογραφίας και Μετα-ανάλυση**

**Integrin expression in correlation to clinicopathological features of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis.**

Εμμανουήλ Γιώργος, MSc, PhD

20180648

Μοριακός Βιολόγος - Γενετιστής

**Τα Μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής**

Επιβλέπων/ουσα: **Αν. Καθηγήτρια Θ. Ψαλτοπούλου**

Μέλος : **Επ. Καθηγήτρια Ν. Γαβριατοπούλου**

Μέλος: **Ιατρός PhD Θ. Σεργεντάνης**

**ΑΘΗΝΑ 2020**



## Ευχαριστίες

Αποτελεί ιδιαίτερη τιμή και χαρά η ολοκλήρωση αυτής της ερευνητικής προσπάθειας η οποία χωρίς την βοήθεια και καθοδήγηση του κου Σεργεντάνη δεν θα είχε καταστεί δυνατή. Η ευχαριστία είναι λίγη ώστε να αποτυπώσουμε την επιρροή που είχε πάνω στο τελικό αποτέλεσμα της μετα-ανάλυσης και ειδικά για εμένα προσωπικά αποτελεί τεράστια τιμή η επιλογή και εμπιστοσύνη που επέδειξε προς το πρόσωπό μου εξ' αρχής.

Στον Αλέξανδρο που σε μία τόσο απαιτητική δουλειά και με όλη την πίεση που αυτό συνεπάγεται η συνεργασία μας υπήρξε παραπάνω από άψογη. Εκτός από έναν συνεργάτη βρήκα και ένα φίλο και αυτό είναι το σημαντικότερο.

Στο ΠΜΣ το υψηλό επίπεδο του οποίου ωθεί και προτρέπει ώστε η πτυχιακή να μην είναι μία απλή υποχρέωση αλλά παραγωγή πρωτότυπης γνώσης, κλείνοντας έτσι με τον καλύτερο τρόπο ένα άκρως επιμορφωτικό κύκλο σπουδών

Τέλος δεν θα μπορούσε να έλειπε η οικογένεια μου από εδώ, η στήριξη της οποίας όχι μόνο τώρα αλλά κάθε στιγμή μέχρι το τώρα αποτέλεσε τον ακρογωνιαίο λίθο για κάθε επιτυχία, μικρή ή μεγάλη.

Ευχαριστώ πολύ



## Περιεχόμενα

Περίληψη εργασίας στην Ελληνική.....	9
Περίληψη εργασίας στην Αγγλική .....	11
Εισαγωγή.....	13
Γενικά .....	13
Ο ρόλος των Ιντεγκρινών ως εξυκτάριοι υποδοχείς .....	13
Ρόλος των Ιντεγκρινών στην Κυτταρική λειτουργία .....	14
Έκφραση των Ιντεγκρινών.....	16
Βιολογικός ρόλος των ιντεγκρινών στην ανάπτυξη του καρκίνου .....	17
Πολλαπλασιασμός .....	17
Εισβολή και κυτταρική αποίκηση .....	18
Απόπτωση .....	19
Αγγειογένεση .....	20
Υλικά & Μέθοδοι.....	21
Αλγόριθμος αναζήτησης και επιλεξιμότητα μελετών.....	21
Κριτήρια επιλογής μελετών .....	22
Κριτήρια αποκλεισμού μελετών .....	23
Εξαγωγή Δεδομένων .....	23
Στατιστική Ανάλυση και Μετα-Ανάλυση .....	24
Κίνδυνος συστηματικού λάθους.....	24
Αποτελέσματα.....	26
Αποτελέσματα βιβλιογραφικής αναζήτησης.....	27
Μελέτες που συμπεριελήφθησαν .....	27
Εκτίμηση Ετερογένειας .....	28
Εκτίμηση Ποιότητας.....	29
Ιντεγκρίνη $\alpha_6$ .....	29
Ιντεγκρίνη $\beta_1$ .....	32
Ιντεγκρίνη $\alpha_v$ .....	34
Ιντεγκρίνη $\alpha_2$ .....	35
Ιντεγκρίνη $\alpha_3$ .....	35
Ιντεγκρίνη $\alpha_5$ .....	36
Ιντεγκρίνη $\alpha_7$ .....	36
Ιντεγκρίνη $\beta_3$ .....	37
Ιντεγκρίνη $\beta_4$ .....	37

Ιντεγκρίνη β <sub>5</sub> .....	37
Ιντεγκρίνη β <sub>6</sub> .....	37
Συζήτηση .....	38
Συμπεράσματα .....	43
Χρηματοδότηση .....	43
Σύγκρουση Συμφερόντων .....	43
Βιβλιογραφία .....	44
Παράρτημα.....	48



## Περίληψη εργασίας στην Ελληνική

**Σκοπός:** Η έγκαιρη και ακριβής αναγνώριση των ασθενών με καρκίνο του προστάτη και επιβαρυσμένη πρόγνωση είναι καίριας σημασίας για την βελτίωση της προσδοκώμενης κατάληξης νόσου και την επιλογή κατάλληλης θεραπείας. Στην προσπάθεια αυτή καινούριοι μοριακοί βιοδείκτες δοκιμάζονται, όπως οι Ιντεγκρίνες. Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση πιθανής συσχέτισης μεταξύ της έκφρασης των τελευταίων με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών, αναλύοντας το σύνολο των βιβλιογραφικών δεδομένων σε μία συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση.

**Μέθοδος:** Σε συμφωνία με τα πρωτόκολλα και τις κατευθυντήριες οδηγίες PRISMA σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και μετα-ανάλυση. Οι βάσεις δεδομένων (Pubmed, Embase, Scopus) εξετάστηκαν ενδελεχώς με καταληκτική ημερομηνία: 10<sup>η</sup> Μαΐου 2020. Τα μοντέλα τυχαίας επίδρασης (DerSimonian-Laird) χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των ομαδοποιημένων λόγων επιδράσεων (pooled Odds Ratios) για τις κλινικοπαθολογικές συσχετίσεις.

**Αποτελέσματα:** Δεκατέσσερις μελέτες συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυσή που περιελάμβαναν συνολικά 3194 περιστατικά καρκίνου του προστάτη. Σύνδεση της χαμηλής έκφρασης της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> (pooled OR=0.10, 95% Διάστημα εμπιστοσύνης, CI: 0.04-0.28, p<0.001) και της Ιντεγκρίνης β<sub>1</sub> (pooled OR=0.45; 95% CI: 0.21-1.00, p=0.049) με το υψηλό Gleason Score παρατηρήθηκε. Μία τάση σύνδεσης μεταξύ της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> και του προχωρημένου σταδίου καρκίνου (σταδιοποίηση κατά TNM) επίσης ανέκυψε από την ανάλυση των δεδομένων (pooled OR=0.48; 95% CI: 0.22-1.03, p=0.06).

**Συμπεράσματα:** Δεδομένα σχετικά με την σύνδεση της έκφρασης των Ιντεγκρινών και των κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών την νόσου προέκυψαν τόσο μέσα από την στατιστική ανάλυση της βιβλιογραφίας όσο και από την ποιοτική αξιολόγησή της. Παρ' όλα αυτά περισσότερες μελέτες χρειάζονται για την ασφαλέστερη σύνδεση των παραμέτρων και την καλύτερη αξιολόγηση της κλινικής τους σημασίας.

**Σύνολο Λέξεων:** 250



## Περίληψη εργασίας στην Αγγλική

**Background:** The prompt identification of patients with poor prognosis is essential in order to improve the treatment outcomes in prostate cancer (PCa); as a novel approach, several molecular markers, including integrins, have been discussed as prognostic biomarkers. Our aim was to comprehensively examine aberrant expression of integrins in correlation with clinicopathological features and prognosis in prostate cancer by synthesizing all available evidence, in a systematic review and meta-analysis.

**Methods:** A systematic review and meta-analysis was performed in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analysis (PRISMA) guidelines. Scientific literature databases (Pubmed, Embase, and Scopus) were systematically searched until May 10, 2020. Random-effects (DerSimonian-Laird) models were used to estimate pooled odds ratios (ORs) for cross-sectional correlations with clinicopathological characteristics and relative risks (RRs) for longitudinal associations with prognosis.

**Results:** Fourteen studies were included with a total number of 3194 PCa cases examined (13 cross-sectional and four longitudinal cohort study arms). Correlation of low expression of  $\alpha_6$  (pooled OR=0.10, 95% confidence interval, CI: 0.04-0.28,  $p<0.001$ ) and  $\beta_1$  (pooled OR=0.45; 95% CI: 0.21-1.00,  $p=0.049$ ) integrin with high Gleason score was noted. A borderline trend between reduced expression of  $\alpha_6$  integrin and an advanced clinical stage of PCa (pooled OR=0.48; 95% CI: 0.22-1.03,  $p=0.06$ ) was observed. No associations with biochemical recurrence and survival were documented.

**Conclusions:** Evidence on the association of low expression of integrins  $\alpha_6$  and  $\beta_1$  and more advanced prostate cancer exists, whereas significant results on survival were not documented; further studies are warranted



# Εισαγωγή

## Γενικά

Οι Ιντεγκρίνες είναι υποδοχείς στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των κυττάρων για την αναγνώριση και την πρόσδεση εξωκυττάρων πρωτεϊνών και οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, την μετακίνηση και την γονιδιακή έκφραση (Hira *et al.* 2009)

Συνθέτουν στο σύνολό τους μία ομάδα κυτταρικών υποδοχέων πρόσδεσης με ευρεία διασπορά πάνω στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης και συνιστούν διαμεμβρανικά ετεροδιμερή τα οποία αποτελούνται από δύο υπομονάδες τις  $\alpha$  και  $\beta$ . Έχουν χαρακτηριστεί 18 διαφορετικές υπομονάδες  $\alpha$  και 8 υπομονάδες  $\beta$  από τον συνδυασμό των οποίων έχουν βρεθεί μέχρι σήμερα 24 διαφορετικά ήδη υποδοχέων (Berrier *et al.* 2007)

Η σηματοδότηση των ιντεγκρινών έχει βρεθεί να απορυθμίζεται σε πολλές περιπτώσει καρκίνων, μεταξύ των οποίων και του προστάτη. Στον τελευταίο μάλιστα τα κύτταρα του όγκου περιβάλλονται από ένα διαφοροποιημένο περικυτταρικό περιβάλλον σε σχέση με τα φυσιολογικά υγιή κύτταρα και έτσι οι αλλαγές στο προφίλ έκφρασης και ενεργοποίησης των ιντεγκρινών είναι πολύ πιθανόν να συμβάλλουν στην διαφοροποίηση αυτή. Είναι πλέον αρκετές οι μελέτες που έχουν συνδέσει την απορρύθμιση αυτή με τη εξέλιξη του καρκίνου του προστάτη σε πιο προχωρημένο στάδιο τόσο σε επίπεδο βασικής όσο και κλινικής βιολογίας (Fornaro *et al.* 2001, Demetriou *et al.* 2004, Goel HL *et al.* 2008).

## Ο ρόλος των Ιντεγκρινών ως εξωκυττάρια υποδοχείς

Οι ιντεγκρίνες αποτελούν τους κύριους υποδοχείς προσκόλλησης για τα συστατικά του εξωκυττάρου στρώματος (ECM) και όπως έχουμε ήδη αναφέρει είναι μία οικογένεια 24 ετεροδιμερών που προκύπτουν από τον συνδυασμό 18- $\alpha$  και 8 $\beta$  υπομονάδων ιντεγκρίνης. Μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως: υποδοχείς που αναγνωρίζουν το μοτίβο Αργινίνη-Γλυκίνη- Ασπαρτικό οξύ (Arginine – Glycine- Aspartic Acid, RGD), υποδοχείς κολλαγόνου, υποδοχείς λαμινίνης και ειδικές ιντεγκρίνες των λευκοκυττάρων (Humphries *et al.* 2006) Εκτός όμως της προσκόλλησης με στοιχεία του εξωκυττάρου περιβάλλοντος οι ιντεγκρίνες αναγνωρίζουν και πλήθος άλλων πρωτεϊνικών μορίων και λειτουργούν ως υποδοχείς για τοξίνες, κάποιους ιούς και άλλα παθογόνα (Hussein *et al.* 2015). Παρότι ορισμένες ιντεγκρίνες προσδένονται αποκλειστικά με συγκεκριμένα μόνο μόρια του εξωκυττάρου στρώματος (για παράδειγμα η  $\alpha_5\beta_1$  με την φιμπρονεκτίνη) κάποιες άλλες έχουν ένα πιο ευρύ φάσμα προσδετών που αναγνωρίζουν, επικαλύπτοντας σε πολλές περιπτώσεις και άλλες ιντεγκρίνες (χαρακτηριστικά η  $\alpha_v\beta_3$  που προσδένει την φιμπρονεκτίνη, βιτρονεκτίνη, ινωδογόνο κ.α.) Πίνακας 1 (Hamidi & Ivaska. 2018). Η πολυποίκιλη αναγνώριση ενός προσδέτη από διαφορετικές ιντεγκρίνες ενεργοποιεί διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια

και έτσι είναι το μοτίβο των εκφραζόμενων στην κυτταρική επιφάνεια ιντεγκρινών που αποτελεί το κλειδί για την κυτταρική αποκρίση στις αλλαγές του μικροπεριβάλλοντος και όχι οι αλλαγές αυτές καθ' αυτές. Οι ιντεγκρίνες ετεροδιμερίζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και ακολουθούν περαιτέρω μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις στο σύμπλεγμα Golgi μέχρι να μετακινηθούν στην κυτταρική επιφάνεια σε ανενεργή μορφή, όπου και ενεργοποιούνται μέσω της αλληλεπίδρασης τους με τα στοιχεία του εξωκυττάριου στρώματος (De Franceschi *et al.* 2015)

Οι ιντεγκρίνες είναι σηματοδοτικά μόρια πολλαπλών κατευθύνσεων και η ενεργοποίησή τους από κάποιο μόριο του εξωκυττάριου στρώματος (ECM) οδηγεί στην δημιουργία συσσωμάτων αποτελούμενα από διαφορετικά στοιχεία (Κυτταροσκελετός, σηματοδοτικά και πτυχωτά μόρια) και τα οποία αλληλεπιδρούν άμεσα ή έμμεσα με στοιχεία του κυτταροπλάσματος (Horton *et al.* 2015, Zaidel-Bar *et al.* 2007). Γι' αυτό το λόγο η απορρύθμιση της έκφρασης τους αποτελεί πρόδρομο διαφόρων παθολογικών καταστάσεων του οργανισμού όπως ο καρκίνος, οι διαταραχές πήξης του αίματος και τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Winograd-Katz *et al.* 2014)

**Πίνακας 1:** Ιντεγκρίνες και τα μόρια αναγνώρισής

Μόρια Στόχοι Ιντεγκρινών	Ιντεγκρίνες	Αλληλουχίες αναγνώρισης
Βιτρονεκτίνη, Φιμπρονεκτίνη, Οστεοποντίνη, Ινωδογόνο	$\alpha_v\beta_1$ , $\alpha_v\beta_3$ , $\alpha_v\beta_5$ , $\alpha_v\beta_6$ , $\alpha_v\beta_8$ , $\alpha_5\beta_1$ , $\alpha_8\beta_1$ , $\alpha_{11}\beta_1$	RGD
Φιμπρονεκτίνη, Αγγειακό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης (VCAM-1), Κυτταρικό μόριο προσκόλλησης του βλεννογόνου (MCAM-1), Διακυτταρικό κυτταρικό μόριο προσκόλλησης (ICAM-1)	$\alpha_4\beta_1$ , $\alpha_4\beta_7$ , $\alpha_9\beta_1$ , $\alpha_E\beta_7$ , $\alpha_1\beta_2$ , $\alpha_M\beta_2$ , $\alpha_X\beta_2$ , $\alpha_D\beta_2$	LDV
Κολλαγόνο, Λαμινίνη	$\alpha_1\beta_1$ , $\alpha_2\beta_1$ , $\alpha_{10}\beta_1$ , $\alpha_{11}\beta_1$	GFOGER
Λαμινίνη	$\alpha_3\beta_1$ , $\alpha_6\beta_1$ , $\alpha_7\beta_1$ , $\alpha_6\beta_4$	άλλες

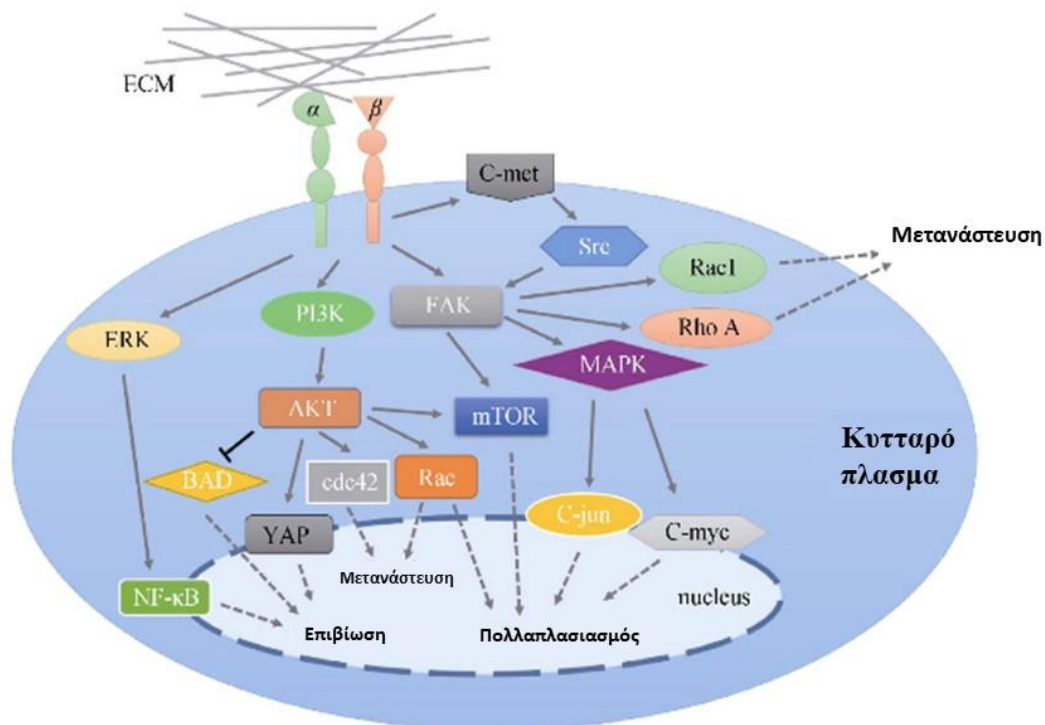
## Ρόλος των Ιντεγκρινών στην Κυτταρική λειτουργία

Οι ιντεγκρίνες, όπως έχουμε ήδη αναφέρει, αναγνωρίζουν και συνδέονται με διάφορα διαλυτά πρωτεϊνικά συστατικά του εξωκυττάριου περιβάλλοντος, όπως το ινωδογόνο αλλά και με εξειδικευμένες περιοχές σύνδεσης των ιντεγκρινών στις κυτταρικές επιφάνειες όπως το μοτίβο Αργινίνη- Γλυκίνη- Ασπαρτικό οξύ (Arginine – Glycine- Aspartic Acid, RGD) κ.α. Κάθε υποδοχέας ιντεγκρίνης προσδένεται ειδικά με ένα ή περισσότερα μόρια στόχους και είναι αυτή η ειδική αναγνώριση που επιτρέπει στα κύτταρα να αντιδρούν με το εξωκυτταρικό περιβάλλον τους ( extracellular matrix, ECM) επάγοντας ειδικά στα καρκινικά κύτταρα την κίνηση και την μετακίνηση τους σε άλλους ιστούς. Μέσω αυτού του μηχανισμού, οι

ιντεγκρίνες επιπλέον ελέγχουν απόλυτα την νεο-σύνθεση αλλά και το μετασχηματισμό του κυτταροσκελετού, ο οποίος έχει άμεση επίδραση σε λειτουργίες όπως η μετακίνηση, η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός και η διαφοροποίηση των κυττάρων σε φυσιολογικές αλλά και παθολογικές συνθήκες (Bianconi *et al.* 2016). Το επιμέρους μοτίβο έκφρασης των ιντεγκρινών και των δομών που αναγνωρίζουν ελέγχει επίσης την απόκριση των κυττάρων στις αλλαγές του μικροπεριβάλλοντος του καθώς κάθε ξεχωριστό ετεροδιμερές μπορεί να αναγνωρίσει ποικίλους στόχους και κάθε στόχος να αναγνωριστεί από πολλαπλά ετεροδιμερή.

Το τελευταίο αυτό χαρακτηριστικό τους επιτρέπει κατά την συμμετοχής τους στον έλεγχο πλήθους φυσιολογικών κυτταρικών λειτουργιών οι ιντεγκρίνες να μπορούν να ανιχνεύουν αλλαγές στο κυτταρικό μικροπεριβάλλον οι οποίες μπορούν να επάγονται από το εξωκυττάριο διασυνδεδετικό υλικό (ECM) μεταξύ άλλων και σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Τέτοια παθολογικά μοτίβα στα οποία ενδεχομένως επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό η λειτουργία και αυτό με την σειρά του επηρεάζει την φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων είναι η Ίνωση, ο καρκίνος και η επούλωση των πληγών, διαδικασίες οι οποίες εν τέλει μπορούν τελικά να οδηγήσουν στον ανασυνδυασμό ( remodeling) των ιστών δημιουργώντας ένα φαύλο κύκλο (Schnittert *et al.* 2018, Bianconi *et al.* 2016).

**Εικόνα 1:** Οι Ιντεγκρίνες και τα σηματοδοτικά μονοπάτια που επηρεάζουν

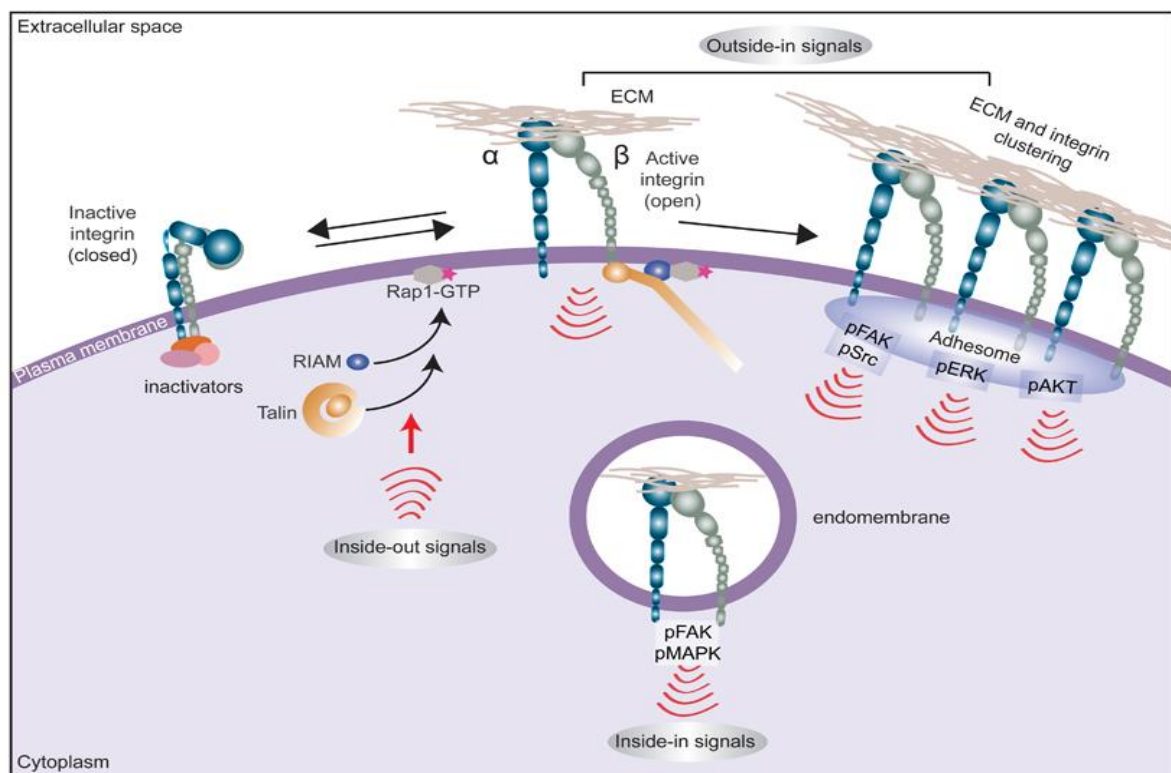


Εκτός όμως από την αναγνώριση εξωκυττάρων στοιχείων του περιβάλλοντος οι ιντεγκρίνες εμπλέκονται και στην διακυτταρική επικοινωνία καθώς μπορούν να αναγνωρίζουν άλλους υποδοχείς γειτονικών κυττάρων. Μέσω της σύνδεσης υποδοχέα-μόριο στόχου οι ιντεγκρίνες μπορούν να μεταφέρουν το κυτταρικό σήμα και προς τις δύο κατευθύνσεις ( εσωκυτταρικά και εξωκυτταρικά) ενεργοποιώντας διάφορες κινάσες οι οποίες με την σειρά τους επιδρούν στην γονιδιακή έκφραση του κυττάρου. Όσο πιο αναγνωρίσιμη γίνεται η δομή και ο ρόλος των ιντεγκρινών τόσο πιο ελκυστικοί γίνονται σαν στόχοι για την αντιμετώπιση διαφόρων νοσημάτων μεταξύ των οποίων και ο καρκίνος ως στόχος ανοσοθεραπείας (Hamidi *et al.* 2016)

## Έκφραση των Ιντεγκρινών

Η λειτουργία των ιντεγκρινών στο κύτταρο δεν ρυθμίζεται μόνο από την απλή αύξηση της έκφρασής τους μέσα από τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος αλλά υπάρχουν και επιπλέον επίπεδα ρύθμισης της. Οι ιντεγκρίνες συνεχώς οδηγούνται στην ενδοκυττάρωση και ακολούθων την ανακύκλωση τους στην μεμβράνη με την κινητική αυτή να διαταράσσεται στις περιπτώσεις των καρκίνων οδηγώντας σε μεταβολή του αριθμού και επομένως της αναλογίας στην οποία απαντώνται στην κυτταρική επιφάνεια (De Franceschi *et al.* 2015, Paul *et al.* 2015)

**Εικόνα 2:** Ρύθμιση της έκφρασης των Ιντεγκρινών και αμφίδρομη μεταγωγή σήματος





Επιπλέον στα φυσιολογικά κύτταρα η ενεργοποίησή τους είναι υπό στενό έλεγχο και τυχόν μεταβολές της μπορούν να προσδώσουν στα κύτταρα ογκογενετικές δυνατότητες μέσω της αλλαγής της σηματοδότησης που προκαλούν. Υπάρχει μία μεγάλη συλλογή βιβλιογραφικών δεδομένων σε σχέση με την έκφρασή τους σε διάφορους τύπους καρκίνου του προστάτη (Bouvard *et al.* 2013, Sheldrake *et al.* 2014).

Η μεταβαλλόμενη έκφραση των ιντεγκρινών έχει συνδεθεί με διάφορους τύπους καρκίνου με τα περισσότερα δεδομένα όμως να είναι από μελέτες συσχέτισης και όχι άμεσης απόδειξης της εμπλοκής στις παθογένειες αυτές που παρατηρούνται.

Επιπλέον αρκετές από αυτές τις μελέτες παρουσιάζουν και κάποια αντιφατικά δεδομένα για κοινούς τύπους καρκίνου πάνω στα ίδια μόρια ιντεγκρινών, που όμως μπορούν να εξηγηθούν από διάφορους παράγοντες όπως είναι η λήψη των δειγμάτων, η κατηγοριοποίηση των όγκων από διαφορετικές μεθοδολογικές προσεγγίσεις και άλλα

Στα πλαίσια όμως της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης το καταληκτικό σημείο που θα αξιολογηθεί είναι η έκφραση τους στο κυτταρικό-μικροπεριβάλλον του καρκίνου του προστάτη και πως αυτή μπορεί να συνδέεται με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου.

Έτσι έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον να δούμε αρχικά σε ποιες διαδικασίες της ανάπτυξης του καρκίνου εμπλέκονται προσπαθώντας να κατανοήσουμε καλύτερα και τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την μελέτη μας.

## Βιολογικός ρόλος των ιντεγκρινών στην ανάπτυξη του καρκίνου

### Πολλαπλασιασμός

Οι ιντεγκρίνες φαίνεται να διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και μελέτες ειδικά για την ιντεγκρίνη  $\beta_1$  πιθανολογούν κάποια δράση της προς όφελος της ανάπτυξης του όγκου (Schnittert *et al.* 2018). Η παρουσία της  $\beta_1$  στην κυτταρική επιφάνεια επάγει στην επιβίωση στα καρκινικά κύτταρα ενεργοποιώντας διάφορες κυτταρικές σηματοδοτικές κινάσες όπως η κινάση της φωσφο-ινοσιτόδης 3 (PI3 kinase) και η κινάση σερίνης/θρεονίνης (AKT). Επίσης φέρεται να επάγει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω της ενεργοποίησης της PTK2 κινάσης, με τα γονίδια Aurora και Survivin να αποτελούν κύριους στόχους της δράσης της (Xia *et al.* 2004)

Η ιντεγκρίνη  $\alpha_3\beta_6$  είναι ένας ακόμα υπό-τύπος ιντεγκρίνης η οποία εκφράζεται φυσιολογικά κατά την εμβρυογένεση και την επιδιόρθωση των ιστών αλλά και παθολογικά κατά την κακοήθεια στο επιθήλιο χωρίς παράλληλα καμία έκφραση στον φυσιολογικό ιστό και τους καλοήθεις όγκους (Ahmed *et al.* 2002)

Έτσι η επαγωγή έχει βρεθεί να επάγει την ανάπτυξη των κακοήθων όγκων μέσω την ενεργοποίησης ποικίλων μονοπατιών μεταξύ των οποίων και της μεταλλοπρωτεάσης 9 (MMP-9) η οποία διασπά το περικυτταρικό περιβάλλον δημιουργώντας ένα περιβάλλον

ευνοϊκό για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον στην εντερική καρκινική κυτταρική σειρά HT-29 η  $\beta_6$  ιντεγκρίνη έχει βρεθεί να αναστέλλει και τον μιτοχονδριακό αποπτωτικό μηχανισμό συμβάλλοντας έτσι στην επιβίωση των κυττάρων και επάγοντας τον κακοήγη πολλαπλασιασμό τους (Kim *et al.* 2018)

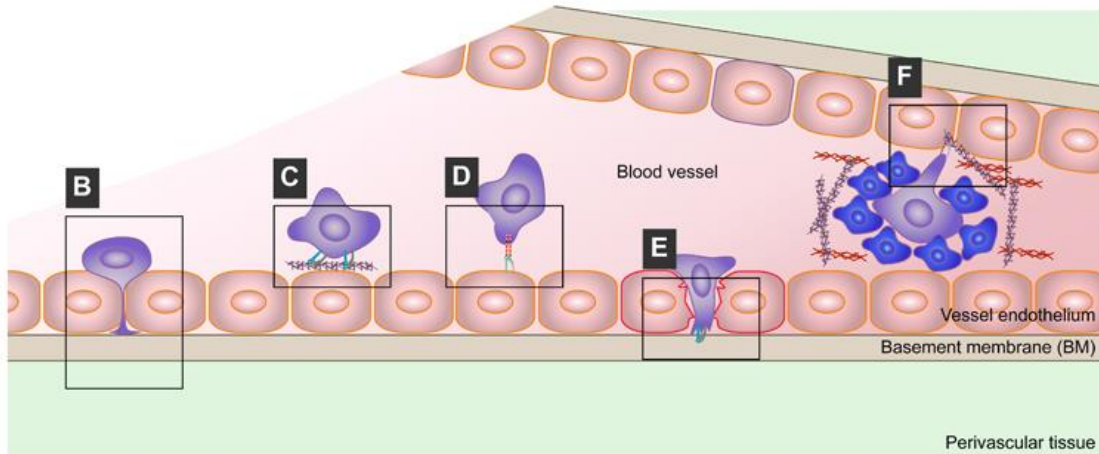
## Εισβολή και κυτταρική αποίκηση

Η πιο συνήθης διαδικασία επαγωγής της εισβολής και μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων είναι μέσω της αποδόμησης του εξωκυττάρου στρώματος το οποίο δρα και ως προστατευτικός φραγμός προς το επιθήλιο και εν τέλει το κυκλοφορικό σύστημα. Η υπερκέραση αυτής της διαδικασίας επιτρέπει στο κύτταρο να μετακινείται σε κάποιο απομακρυσμένο σημείο στόχο όπου προσδένεται στην βάση των ενδοθηλιακών κυττάρων εισβάλλοντας τους γειτονικούς ιστούς σχηματίζοντας μία νέα μετάσταση. Στην όλη αυτή διαδικασία αυτό που μοιάζει να είναι το σημείο κλειδί είναι η σύνδεση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του εξωκυττάρου στρώματος (ECM). Κατά τα πρώιμα στάδια του καρκίνου η ασθενής έκφραση των ιντεγκρινών μπορεί να αποδυναμώσει αυτή την σύνδεση διατηρώντας αυτό τον φραγμό. Στο στάδιο αυτό όλη η ανάπτυξη του όγκου παραμένει τοπικά εστιασμένη χωρίς να παρατηρείται επιπλέον διασπορά του καρκίνου. Όταν όμως τα καρκινικά κύτταρα περάσουν στην κυκλοφορία του αίματος η αύξηση της έκφρασης των ιντεγκρινών καθιστά αποτελεσματικότερη την σύνδεση των κυττάρων στο αγγειακό ενδοθήλιο και τον πολλαπλασιασμό τους (Bianconi *et al.* 2016).

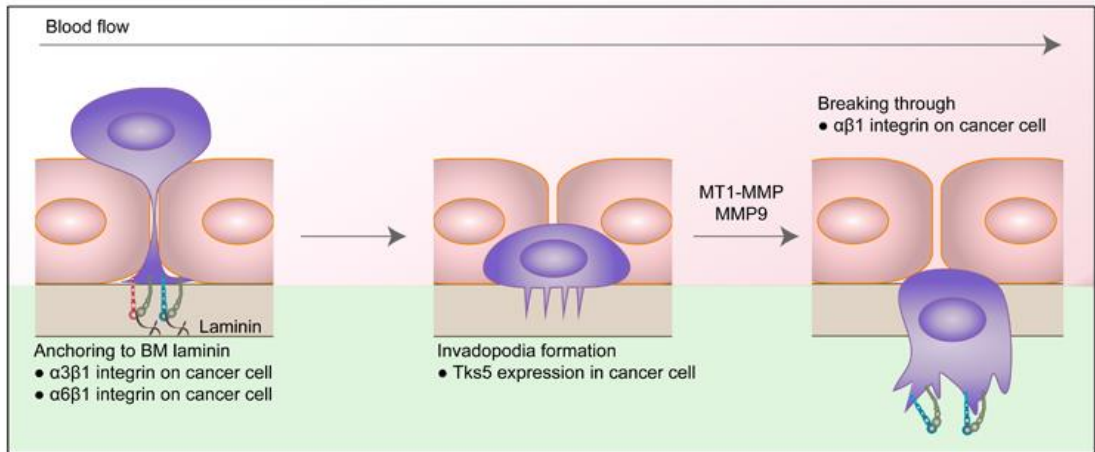
Κύριο ρόλο στην αποδόμηση του εξωκυττάρου στρώματος, όπως έχουμε ήδη αναφέρει διαδραματίζει μία οικογένεια πρωτεϊνών με την ονομασία Μεταλλοπρωτεάσες (MMPs) και οι οποίες έχουν βρεθεί να επηρεάζονται από τις ιντεγκρίνες σε διάφορες μορφές καρκίνου. Σε ορισμένους νευρολογικούς καρκίνου η ιντεγκρίνη  $\alpha_1\beta_3$  έχει βρεθεί να αποτελεί μέρος του συμπλέγματος των μεταλλοπρωτεασών και μάλιστα εν τη απουσία της η MMP-2 χάνει την βιολογική δραστηριότητα της (Chen *et al.* 2014). Αντίστοιχη σύνδεση έχουμε ήδη περιγράψει για την  $\beta_6$  και την MMP-9 η οποία σύνδεση εκτός της ρύθμισης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού φαίνεται να επιτρέπει στο καρκινικό κύτταρο να υπερκεράσει τον φραγμό του εξωκυττάρου στρώματος επάγοντας την ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου. Γίνεται έτσι εμφανές ότι η ρύθμιση από τις ιντεγκρίνες στις μεταλλοπρωτεάσες μπορεί να ελέγχει και επομένως να ρυθμίζει την μετακίνηση και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.

**Εικόνα 3:** Ο ρόλος των Ιντεγκρινών στην καρκινική μετάσταση

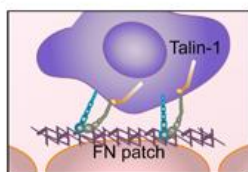
A



B

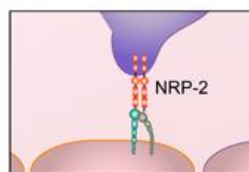


C



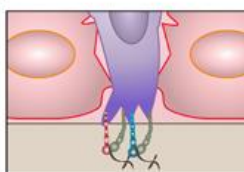
- fibronectin patches on endothelial cells
- talin-1 expression in cancer cells

D



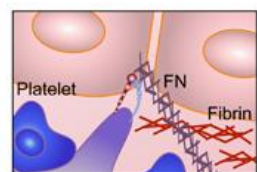
- neuropilin expression on cancer cell
- α5β1 integrin expression on endothelial cells

E



- α3β1 integrin on cancer cell
- α6β1 integrin on cancer cell
- anchoring to BM laminin

F



- platelet, cancer cell and fibrin aggregates recruit fibronectin (FN)
- αvβ3 integrin is activated on cancer cell
- cancer cell escapes fibrin clot

Εικόνα από Hamidi and Ivaska / Nat Rev Cancer. 2018 Sep 1; 18(9): 533–548.

## Απόπτωση

Η απόπτωση είναι μία σύνθετη διαδικασία η οποία βρίσκεται υπό αυστηρή ρύθμιση και στο πλαίσιο αυτό ρυθμίζεται και περιορίζεται από διάφορους παράγοντες. Το πολυσύνθετο μικροπεριβάλλον των καρκινικών κυττάρων όμως που περιβάλλεται από το εξωκυττάριο στρώμα το οποίο το καθορίζει και το περιορίζει μέσω των ιντεγκρινών μπορεί να την επηρεάσει.

Τα κύτταρα προσδένονται σ αυτό με την βοήθεια πρωτεϊνών προσκόλλησης που βρίσκονται στην επιφάνεια τους και κύτταρα που θα απωλέσουν αυτή την ικανότητα είναι πιο πιθανό να οδηγηθούν στην απόπτωση (Zhao-He *et al.* 2019). Εκμεταλευόμενη την λειτουργική της ικανότητα και μέσω αυτού του μονοπατιού η ιντεγκρίνη  $\alpha_v\beta_3$  μπορεί και αναστέλλει την απόπτωση στα καρκινικά κύτταρα (Bianconi *et al.* 2016). Επίσης η δυνατότητα της  $\alpha_v\beta_3$  ιντεγκρίνης να αναστέλλει την απόπτωση έχει βρεθεί να ενισχύεται και από την δυνατότητά της να ενεργοποιεί τα σηματοδοτικά μονοπάτια των FAK-PI3K/ Akt-mTOR και ERK κινασών. Έχει επίσης αναφερθεί ότι και η ιντεγκρίνη  $\alpha_v$  από μόνη της ανεξαρτήτως του δεύτερου διμερούς της στον καρκίνο των ωθηκών μέσω της σύνδεσής της με την φαϊμπρονεκτίνη μπορεί να επάγει την κυτταρική επιβίωση (Ahmed *et al.* 2002). Όταν και τα δύο αυτά μονοπάτια είναι απενεργοποιημένα μπλοκάρεται συνεπακόλουθα και η μεταφορά από το εξωκυττάριο περιβάλλον στο κύτταρο των σημάτων επιβίωσης οδηγώντας έμμεσα τα κύτταρα στην απόπτωση κλειδώνοντας στην φάση G1/G0 του κυτταρικού κύκλου.

Τα σηματοδοτικά μόρια που βρίσκονται καθοδικά των δύο αυτών ιντεγκρινών είναι πολλά και σε πολλές περιπτώσεις εξαιρετικά σύνθετα και αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η συνεχής και παρατεταμένη προσκόλληση των κυττάρων στο εξωκυττάριο στρώμα (ECM) μπορεί να οδηγεί σε συνεχή ενεργοποίηση των πρωτο-ογκογονιδίων και την αναστολή της απόπτωσης (Stupack *et al.* 2001, Lotti *et al.* 2010)

## Αγγειογένεση

Σκοπός του σχηματισμού των αιμοφόρων αγγείων στο εσωτερικό του όγκου είναι η παροχή στα κύτταρα θρεπτικών στοιχείων απαραίτητων για την ανάπτυξη του όγκου και την μετάστασή του. Στο στάδιο της αγγειογένεσης και βάσει των ήδη υπάρχοντων δομών αγγείων της περιοχής τα ενδοθηλιακά κύτταρα κάτω από την επίδραση αγγειογενών παραγόντων πολλαπλασιάζονται και μετακινούνται κατά τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίσουν τις δομές αυτές με καταληκτικό σκοπό την ανάπτυξη ενός συστήματος αγγειοφόρων σχηματισμών. Κατά την διαδικασία αυτά τα ενδοθηλιακά κύτταρα πρέπει να προσκολληθούν τόσο μεταξύ τους όσο και με το εξωκυττάριο στρώμα δημιουργώντας τις κατάλληλες συνθήκες για την νεο-αγγειοποίηση και οι ιντεγκρίνες ως τα κατ' εξοχήν μόρια προσκόλλησης των κυττάρων (διακυτταρικά αλλά και με το εξωκυττάριο στρώμα) φαίνεται να είναι κομβικής σημασίας για την διαδικασία αυτή (Zhao-He *et al.* 2019). Συγκεκριμένα η έκφραση ειδικά της  $\alpha_v\beta_3$  έχει βρεθεί να επάγει την αγγειογένεση σε πολλούς τύπους καρκίνου μεταξύ των οποίων του πνεύμονα, του παχέος εντέρου, του στήθους και του παγκρέατος. Ρόλος που φαίνεται να επιβεβαιώνεται και από την δράση που εμφανίζουν στους όγκους αυτούς οι ανταγωνιστές της  $\alpha_v\beta_3$  ιντεγκρίνης καθώς και πολλές ιντεγκρίνες της οικογένειας των  $\beta_1$  ιντεγκρινών εκφράζονται σε κύτταρα του αγγειακού ενδοθηλίου (Shattil *et al.* 1997).

Τα καρκινικά κύτταρα εκμεταλλεύονται την παρουσία αυτή των ιντεγκρινών με αποτέλεσμα να προσκολλώνται πάνω στα ενδοθηλιακά αυτά κύτταρα, να ενεργοποιούν τους σηματοδοτικούς καταρράκτες που αναστέλλουν τα P53 και MAPK σηματοδοτικά μονοπάτια αποτρέπουν την απόπτωση με συνέπεια τον πολλαπλασιασμό τους και εν τέλει την δημιουργία αιμοφόρων δομών (Mahabeleshwar *et al.* 2008). Έχει επίσης αναφερθεί ότι οι

ιντεγκρίνες μπορούν να επάγουν την αγγειογένεση και μέσω της ενίσχυσης της έκφρασης του μονοπατιού του VEGF που είναι ένας από τους καλύτερα χαρακτηρισμένους μηχανισμούς αγγειογένεσης (Larsen *et al.* 2010).

Στο πλαίσιο της υπάρχουσας βιβλιογραφίας και προσπαθώντας να αξιολογήσουμε σωστά τα υπάρχοντα δεδομένα σκοπός της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης και μετά-ανάλυσης είναι η μελέτη της έκφρασης των Ιντεγκρινών και η συσχέτιση τους με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του προστάτη για την καλύτερη κατανόηση της λειτουργίας τους και της κλινικής σημασίας που μπορεί να έχουν στην εξέλιξη και κατάληξη της νόσου.

## Υλικά & Μέθοδοι

### Αλγόριθμος αναζήτησης και επιλεξιμότητα μελετών

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας και έρευνας ολοκληρώθηκε μία συστηματική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας και ακολούθησε μετα-ανάλυση των δεδομένων των επιλέξιμων για την έρευνα μελετών. Οι κατευθυντήριες οδηγίες PRISMA ( Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analysis) ακολουθήθηκαν για την ακριβή και αξιόπιστη συλλογή και επεξεργασία των δεδομένων. (Liberati A *et al*, 2009) Το πρωτόκολλο σχεδιασμού της παρούσας μελέτης παρατίθεται στον πίνακα 1 του παραρτήματος.

Η αναζήτηση της βιβλιογραφίας έλαβε χώρα σε τρεις διαφορετικές βάσεις δεδομένων (Pubmed, Embase και Scopus) και η τελευταία ημερομηνία αναζήτησης ήταν της 10<sup>ης</sup> Μαΐου 2020.

Οι αλγόριθμοι αναζήτησης σχεδιάστηκαν αποκλειστικά στα πλαίσια της μελέτης και με βάσει τον σκοπό της έρευνας ώστε να είναι δυνατή η συλλογή και αναγνώριση του συνόλου της διαθέσιμης βιβλιογραφίας. Συνολικά οι 3 αλγόριθμοι που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι:

#### Pubmed Algorithm

("integrins"[MeSH Terms] OR "integrins"[All Fields] OR "integrin"[All Fields] OR ("integrins"[MeSH Terms]) AND ("prostatic neoplasms"[MeSH Terms] OR ("prostatic"[All Fields] AND "neoplasms"[All Fields]) OR "prostatic neoplasms"[All Fields] OR ("prostate"[All Fields] AND "neoplasms"[All Fields]) OR ("prostate"[All Fields] AND

"cancer"[All Fields]) OR ("prostate"[All Fields] AND "carcinoma"[All Fields]) OR ("prostate"[All Fields] AND "carcinomas"[All Fields]) OR "prostate cancer"[All Fields])

#### Embase Algorithm

("integrins" OR "integrins" OR "integrin" OR "integrins" AND ("prostatic neoplasms" OR "prostatic" AND "neoplasms") OR "prostatic neoplasms" OR ("prostate" AND "neoplasms") OR ("prostate" AND "cancer") OR ("prostate" AND "carcinoma") OR ("prostate" AND "carcinomas" OR "prostate cancer"))

#### Scopus Algorithm

(integrins OR integrin) AND (prostatic neoplasms OR {prostatic AND neoplasms} OR prostatic neoplasms OR {prostate AND neoplasms} OR {prostate AND cancer} OR {prostate AND carcinoma} OR {prostate AND carcinomas} OR prostate cancer) AND NOT INDEX(medline)

Κάθε ένας από του αλγόριθμους που χρησιμοποιήσαμε ήταν ιδιαίτερα ευρύς σε όρους αναζήτησης με σκοπό την επίτευξη του μέγιστου αποτελέσματος και την αναγνώριση όλων των σχετικών με την ανάλυση άρθρων, ακόμα και εκείνων που δεν περιείχαν σχετικές πληροφορίες στην περίληψη παρά μόνο στο κυρίως κείμενο ή τους συνοδευτικούς τους πίνακες.

#### Κριτήρια επιλογής μελετών

Ο σχεδιασμός της μελέτης ( μελέτη κοορτής, διατομής και ασθενών – μαρτύρων) δεν διαδραμάτιζε ρόλο στην τελική επιλογή της μελέτης καθιστώντας όλους τους διαθέσιμους σχεδιασμούς επιλέξιμους. Βασική προϋπόθεση όμως ήταν να εξετάζονταν η σύνδεση μεταξύ της έκφρασης των ιντεγκρινών και βασικών κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών. Κύρια μεθοδολογία προσδιορισμού της έκφρασης των ιντεγκρινών ήταν η ανοσοϊστοχημεία και τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά που μας αξιολογήθηκαν ήταν: το Gleason score, η σταδιοποίηση κατά TNM, το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) και τυχόν μετάσταση στους λεμφαδένες. Με βάσει αυτά τα ζητούμενα ολοκληρώθηκε η συστηματική αναζήτηση της βιβλιογραφίας και επιπλέον στα επιλέξιμα άρθρα και τα σχετικές εργασίες ανασκόπησης (reviews) πραγματοποιήθηκε ακόμα μία συστηματική αναζήτηση των βιβλιογραφικών αναφορών για την αναγνώριση πιθανών επιλέξιμων άρθρων ( τεχνική “snowball”). Σε



περιπτώσεις μελετών με αλληλεπικαλυπτόμενο πληθυσμό μόνο η μελέτη με τον μεγαλύτερο πληθυσμό συμπεριλαμβανόταν.

Η διαδικασία αξιολόγησης και διαλογής των άρθρων ολοκληρώθηκε στο σύνολο της ανεξάρτητα από δύο ερευνητές ( Γ. Εμμανουήλ & Α. Δρίβαλος) και σε περίπτωση διαφωνίας ή αμφιβολίας εγκυρότητας των αποτελεσμάτων η τελική απόφαση λαμβανόταν μετά από συμβουλευτική από τρίτο κύριο ερευνητή ( Θ. Σεργεντάνης) και σύσκεψη της ομάδας εργασίας.

## Κριτήρια αποκλεισμού μελετών

Τα βασικά κριτήρια αποκλεισμού περιελάμβαναν τις μελέτες *in vitro*, τις μελέτες σε ζώα, τις βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις καθώς και τις μελέτες αναφοράς περιστατικού ή σειράς περιστατικών. Επιπλέον όπως ήδη αναφέρθηκε και στην προηγούμενη παράγραφο σε μελέτες με αλληλεπικαλυπτόμενο πληθυσμό, ο μικρότερος αριθμός ασθενών σε κάποια από αυτές συνιστούσε κριτήριο αποκλεισμού για την εν λόγω μελέτη.

Επιπλέον μελέτες στις οποίες υπήρχαν ελλιπή στοιχεία και η επικοινωνία με τον/τους συγγραφείς τους δεν μπόρεσε να μας παρέχει τα ζητούμενα δεδομένα επίσης αποκλείστηκαν.

Τέλος άρθρα και μελέτες τα οποία ήταν δημοσιευμένα σε γλώσσα διαφορετική της Αγγλικής αποκλείστηκαν από την εν λόγω συστηματική ανασκόπηση βιβλιογραφίας.

Όλες οι μελέτες συναφής θεματολογίας και για τις οποίες δεν κατέστη δυνατή για τους παραπάνω λόγους η αξιολόγηση τους χαρακτηρίστηκαν ως αιτιολογικά εξαιρούμενες (excluded with reasons) και περιγράφονται στον ακόλουθο πίνακα 2.

## Εξαγωγή Δεδομένων

Τα δεδομένα που εξήχθησαν από κάθε μία από τις επιλέξιμες μελέτες περιελάμβαναν πέραν των στοιχείων της δημοσίευσης και δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών. Πιο συγκεκριμένα χαρτογραφήθηκαν οι εξής πληροφορίες: Όνομα πρώτου συγγραφέα, έτος δημοσίευσης, περιοδικό δημοσίευσης, τύπος μελέτης, χρονική περίοδος της μελέτης μαζί με την περίοδο παρακολούθησης (follow-up), γεωγραφική περιοχή της μελέτης, εθνικότητα συμμετεχόντων, ιντεγκρίνες που εξετάστηκαν, κατηγοριοποίηση της έκφρασης των ιντεγκρινών, κυτταρικό διαμέρισμα της ανίχνευσής τους, δείγμα στο οποίο έγινε ο έλεγχος της έκφρασης, τα καταληκτικά σημεία της μελέτης και σε περίπτωση πολυ-παραγοντικών αναλύσεων οι παράγοντες προσαρμογής που συνεκτιμήθηκαν. Όπως και κατά

την διαδικασία διαλογής των άρθρων έτσι και στην εξαγωγή των δεδομένων κατά πλήρη αντιστοιχία δύο κριτές (ΓΕ και ΑΔ) λειτούργησαν ανεξάρτητα και τυφλά μεταξύ τους και σε περίπτωση διαφωνίας ακολούθησε συμβουλευτική παρουσία και τρίτου κριτή (ΘΣ) και λήφθηκε απόφαση με ομαδική και πλήρη συμφωνία.

Τα αποτελέσματα του σταδίου εξαγωγής μελετών παρατίθενται στον Πίνακα 1 του Παραρτήματος.

## Στατιστική Ανάλυση και Μετα-Ανάλυση

Η καταγραφή των αξιολογήσιμων δεδομένων έγινε χρησιμοποιώντας το λογισμικό Excel 2016 (Microsoft Corporation, Redmond, CA, USA) και η στατιστική ανάλυση με την χρήση της πλατφόρμας Stata/SE έκδοση 13 (College Station, TX, USA). Σ' όλες τις δοκιμασίες ήταν η υψηλότερη συγκέντρωση ιντεγκρίνης που συγκρίθηκε με την χαμηλότερη.

Για τις αναλύσεις διατομής που αφορούσαν τις μελέτες σύνδεσης έκφρασης ιντεγκρινών και κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών των ασθενών υπολογίστηκε ο δείκτης αναλογίας πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR).

Στις περιπτώσεις δεδομένων από δύο ή και περισσότερες μελέτες τα δεδομένα παρουσιάστηκαν με την μορφή δενδρογραμμάτων (Forest Plot) και στην ομογενοποίηση και ομαδοποίηση των δεδομένων τους χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο τυχαίας επίδρασης DerSimonian Laird.

Επιπλέον της γενικής ανάλυσης υπήρξε και στατιστική αξιολόγηση στις υποκατηγορίες των κυτταρικών δομών έκφρασης όπως αυτές ορίζονταν στις μελέτες (κυτταρική μεμβράνη / κυτταρόπλασμα / Μη οριζόμενο)

Σε περίπτωση δεδομένων από μία μόνο μελέτη υπήρξε απλή βιβλιογραφική αναφορά των δεδομένων της.

Η ετερογένεια μεταξύ των μελετών αξιολογήθηκε με τους ελέγχους Q-test και  $I^2$ . Το όριο σημαντικότητας της κάθε ανάλυσης ορίστηκε στο επίπεδο του  $p = 0,05$ . Επιπλέον καθώς σε καμία από τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν δεν περιλαμβάνονταν περισσότερες από 10 μελέτες έλεγχοι μετα-γραμμικής παλινδρόμησης (*meta-regression analysis*) και υπόθεσης βιβλιογραφικού συστηματικού λάθους (*assessment of publication bias*) δεν χρειαζόταν να πραγματοποιηθούν (Higgins *et al*, 2019).

## Κίνδυνος συστηματικού λάθους



Η ποιότητα των επιλεγμένων μελετών αξιολογήθηκε με βάση την κλίμακα Newcastle – Ottawa (Wells *et al*, 2020). Στην ανάλυση της συσχέτισης της έκφρασης των Ιντεγκρινών με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκε κλίμακα ανάλογη του καταληκτικού σημείου και ο ανώτατος βαθμός αξιολόγησης μία μελέτης ορίστηκε ως το 7. Στο ενδεχόμενο πολυπαραγοντικής ανάλυσης το κατώτατο όριο διάρκειας παρακολούθησης των ασθενών ορίστηκε *a priori* στα 5 έτη. Αντίστοιχα το απαιτούμενο ελάχιστο ποσοστό όσων ολοκλήρωσαν την μελέτη για να μπορέσει να αξιολογηθεί στην κλίμακα ορίστηκε εκ προοιμίου στο 85%. Και οι δύο αυτές παράμετροι αξιολογήθηκαν μόνο όπου ήταν εφαρμόσιμες όπως έχει ήδη περιγραφεί στην υπάρχουσα βιβλιογραφία (Psaltopoulou *et al*, 2013). Κατ' αναλογία και των προηγούμενων διαδικασιών δύο ανεξάρτητοι ερευνητές (ΓΕ και ΑΔ) αξιολόγησαν τον κίνδυνο συστηματικού σφάλματος και σε περίπτωση διαφωνίας η τελική απόφαση ελήφθη μετά από συνεδρίαση της ομάδας.

**Πίνακας 2:** Μελέτες αιτιολογικά εξαιρούμενες (excluded with reasons)

Μελέτη	Τίτλος ( Αγγλοφωνος)	Κριτήριο Αποκλεισμού
<b>Μελέτες που αξιολογούν την έκφραση των Ιντεγκρινών ως ένα σύνθετο score</b>		
Colombel et al (2012) – δεδομένα επιβίωσης	Increased Expression of Putative Cancer Stem Cell Markers in Primary Prostate Cancer is Associated With Progression of Bone Metastases	Η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier περιέλαμβανε το σύνολο της έκφρασης των α <sub>6</sub> Ιντεγκρίνη, α <sub>2</sub> Ιντεγκρίνη και C-Met ως ένα σύνθετο δείκτη αξιολόγησης
<b>Μελέτες που αξιολόγησαν την έκφραση των Ιντεγκρινών ως μία συνεχή μεταβλητή ή χωρίς την κατάλληλη σύγκριση</b>		
Konac et al. (2017)	Do the expressions of epithelial–mesenchymal transition proteins, periostin, integrin-α4 and fibronectin correlate with clinicopathological features and prognosis of metastatic castration-resistant prostate cancer?	Η έκφραση των Ιντεγκρινών αξιολογήθηκε ως μία συνεχής νουμερική μεταβλητή
Colombel et al (2012) – Κλινικοπαθολογικές συσχέτισεις	Increased Expression of Putative Cancer Stem Cell Markers in Primary Prostate Cancer is Associated With Progression of Bone Metastases	Τα αποτελέσματα της έκφρασης σχετικά με την α <sub>6</sub> και την α <sub>2</sub> Ιντεγκρίνη παρουσιάστηκαν ως ποσοστό επί των θετικά σημασμένων κυττάρων, γεγονός που αξιολόγησε την μεταβολή της έκφρασης ως μία συνεχή μεταβλητή
Davis et al. (2001)	Unique expression pattern of the alpha6beta4 integrin and laminin-5 in human prostate carcinoma	Τα αποτελέσματα της έκφρασης προέκυψαν μετά από σύγκριση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του φυσιολογικού επιθηλίου, γεγονός που δεν κατέστησε δυνατή την σύνδεση με κλινικοπαθολογικές παραμέτρους όπως το Gleason score και η κατά TNM σταδιοποίηση
Perlino et al. (2000)	Regulation of mRNA and protein	Η έκφραση των Ιντεγκρινών έγινε μέσω

	levels of beta1 integrin variants in human prostate carcinoma	ποσοτικοποίησης του mRNA και σύγκριση μεταξύ των δειγμάτων των ασθενών και των μαρτύρων. Η ερευνητική αυτή προσέγγιση δεν επέτρεψε την άμεση σύγκριση μεταξύ των καρκινικών δειγμάτων διαφορετικών κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών καθιστώντας εκ προοιμίου αδύνατη την σύνθεση τετράπτυχου πίνακα για την αξιολόγηση της επίδρασης. Επιπλέον η ανάλυση στο mRNA λόγω των κυτταρικών μετα-μεταγραφικών, μεταφραστικών και μετα-μεταφραστικών μηχανισμών δεν μπορεί εξ ορισμού να υποτεθεί ότι ανταποκρίνεται και στο συνολικό πρωτεϊνικό φορτίο των Ιντεγκρινών στα υπό μελέτη κύτταρα.
Murant et al. (1997)	Co-ordinated Changes in Expression of Cell Adhesion Molecules in Prostate Cancer	Τα αποτελέσματα που αναφέρονται στην μελέτη αφορούν μόνο την υψηλή έκφραση των Ιντεγκρινών και επομένως χωρίς τα αντίστοιχα δεδομένα της μειωμένης έκφρασης δεν είναι δυνατή η στατιστική αξιολόγηση της συσχέτισης μεταξύ των δύο παραμέτρων
Knox et al. (1994)	Differential expression of extracellular matrix molecules and the alpha 6-integrins in the normal and neoplastic prostate.	Τα δεδομένα για τις Ιντεγκρίνες α <sub>6</sub> , β <sub>1</sub> και β <sub>7</sub> παρουσιάστηκαν γραφικά μόνο με την μορφή εικόνας μικροσκοπίας φθορισμού καθιστώντας αδύνατη την ποσοτικοποίηση της έκφρασης και αποκλείοντάς τα από την δυνατότητα στατιστικής επεξεργασίας
Bankhoff et al. (1993)	Differential expression of alpha 6 and alpha 2 very late antigen integrins in the normal, hyperplastic, and neoplastic prostate: simultaneous demonstration of cell surface receptors and their extracellular ligands	Η κλίμακα αξιολόγησης κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών που χρησιμοποιήθηκε στην μελέτη αυτή για την συσχέτιση με την έκφραση των Ιντεγκρινών αντιστοιχούσε σε μία παλαιότερη σταδιοποίηση η οποία πλέον δεν χρησιμοποιείται και δεν μπορούσε να μετατραπεί και σε κάποια από τις χρησιμοποιούμενες στην σύγχρονη κλινική πρακτική. Ως εκ τούτου τα αποτελέσματα ήταν μη συγκρίσιμα και δεν γινόταν να ομαδοποιηθούν με των υπολοίπων μελετών.
<b>Μελέτες σε δείγματα διαφορετικά του αρχικού όγκου</b>		
Eaton et al. (2010)	Evaluation of the Frequency of Putative Prostate Cancer Stem Cells in Primary and Metastatic Prostate Cancer	Τα δείγματα στα οποία έγινε η ποσοτικοποίηση της έκφρασης των Ιντεγκρινών δεν ήταν λήψεις από τον αρχικό όγκο του προστάτη αλλά από τις μεταστάσεις του καρκίνου στα οστά που δεν ήταν αντικείμενο της παρούσας μετα-ανάλυσης
Pontes et al. (2009)	Evaluation of the expression of integrins and cell adhesion molecules through tissue microarray in lymph node metastases of prostate cancer	Η σύγκριση του μοτίβου έκφρασης των Ιντεγκρινών ήταν ανάμεσα σε δείγματα από τον αρχικό όγκο και τις μεταστάσεις σε λεμφαδένες γεγονός που δεν αποτελεί αντικείμενο της παρούσας μετα-ανάλυσης και δεν μπορούσε να προκύψει σύγκριση με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά

## Αποτελέσματα

## Αποτελέσματα βιβλιογραφικής αναζήτησης

Όπως έχει ήδη αναφερθεί η αναζήτηση της βιβλιογραφίας έγινε με καταληκτική ημερομηνία της 10<sup>ης</sup> Μαΐου 2020 και με βάση τον αλγόριθμο που περιγράψαμε προηγουμένως σε 3 βιβλιογραφικές βάσεις δεδομένων ( Pubmed, Embase & Scopus).

Αφού αφαιρέθηκαν οι πολλαπλές αναφορές ανάμεσα στις 3 αυτές βάσεις προέκυψαν 1796 μοναδικές εγγραφές και οι οποίες αξιολογήθηκαν ελέγχοντας τον τίτλο και την περίληψη του άρθρου κατά πόσο μπορούν να περιληφθούν στην παρούσα μελέτη.

Με βάση τον αρχικό αυτό συστηματικό έλεγχο 1582 άρθρα κρίθηκαν ως μη σχετικά με τα καταληκτικά σημεία της ανάλυσής μας και απορρίφθηκαν.

Είκοσι επιπλέον μελέτες δεν ήταν διαθέσιμες στην Αγγλική γλώσσα και επίσης απορρίφθηκαν.

Τέλος 161 άρθρα ήταν βιβλιογραφικές ανασκοπήσεις οι οποίες δεν είναι αντικείμενο της παρούσας ανάλυσης και σε 7 δεν υπήρχε καθόλου κείμενο πλην της περίληψης οπότε και χαρακτηρίστηκαν ως μη αξιοποιήσιμες.

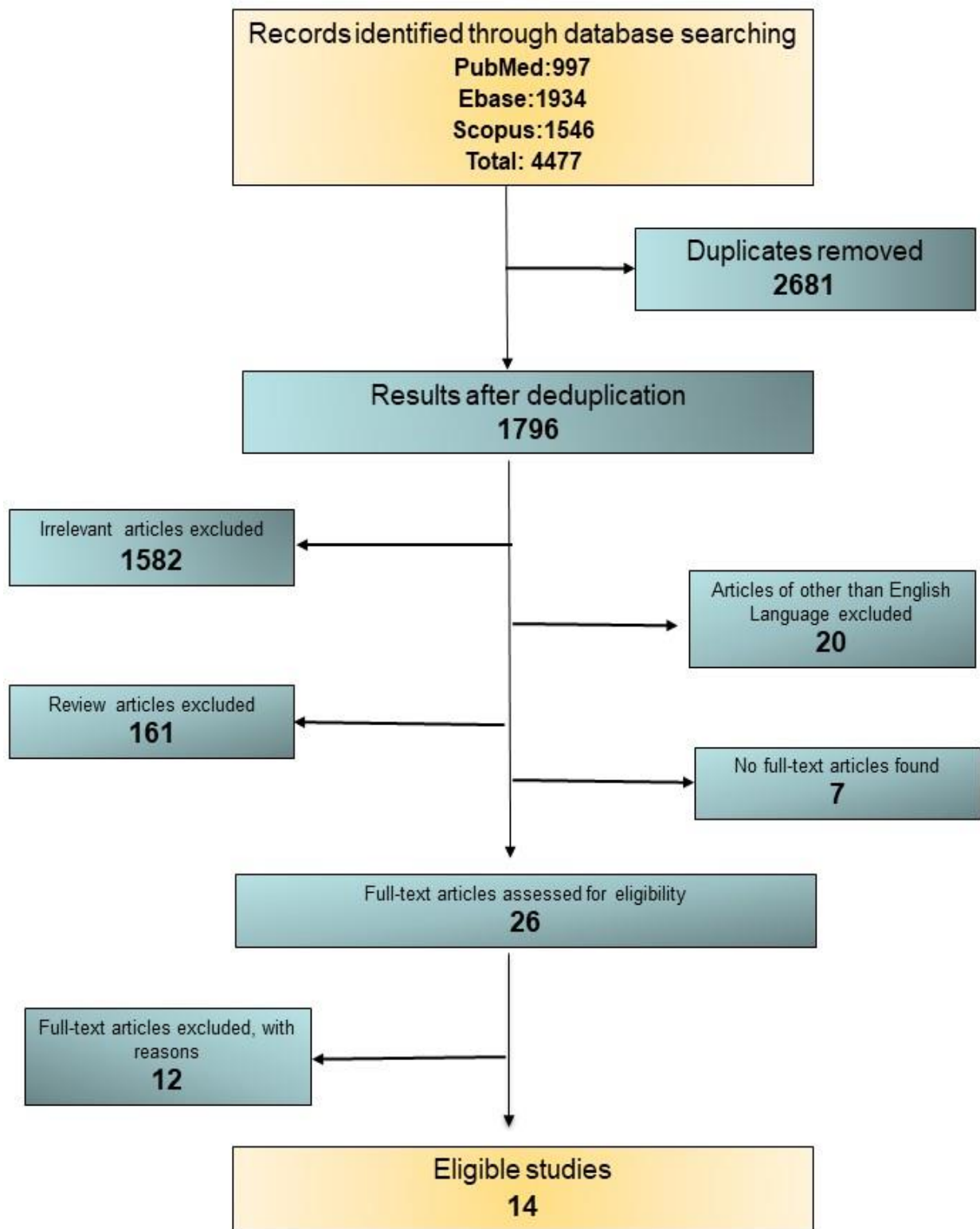
Αφαιρώντας όλες τις παραπάνω στο τέλος προέκυψαν 26 δημοσιεύσεις για να αξιολογηθούν σε βάθος από το πλήρες κείμενό τους και εξ αυτών 12 χαρακτηρίστηκαν ως αιτιολογικά εξαιρούμενες (excluded with reasons) με τα χαρακτηριστικά τους να αναφέρονται στον πίνακα 2 του παραρτήματος.

Συνολικά η διαδικασία διαλογής μελετών με τα αποτελέσματά της παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.

## Μελέτες που συμπεριελήφθησαν

Συνολικά 14 μελέτες συμπεριελήφθησαν στην ανάλυση οι οποίες περιελάμβαναν συνολικά 3194 διαγνωσμένες περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη με το μέγεθος ασθενών της κάθε μίας να κυμαίνεται από 20 ασθενείς (η μικρότερη) έως 1284 (η μεγαλύτερη πληθυσμιακά μελέτη). Αναλύσεις συσχετίσεων με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ήταν διαθέσιμες σε 13 από αυτές καμία εκ των οποίων δεν ήταν μελέτη ασθενών μαρτύρων. Τα πλήρη δημογραφικά και περιγραφικά χαρακτηριστικά της κάθε μίας από αυτές τις μελέτες παρατίθενται στον πίνακα 1 του παραρτήματος.

**Εικόνα 4: Flow Chart**



Εκτίμηση Ετερογένειας

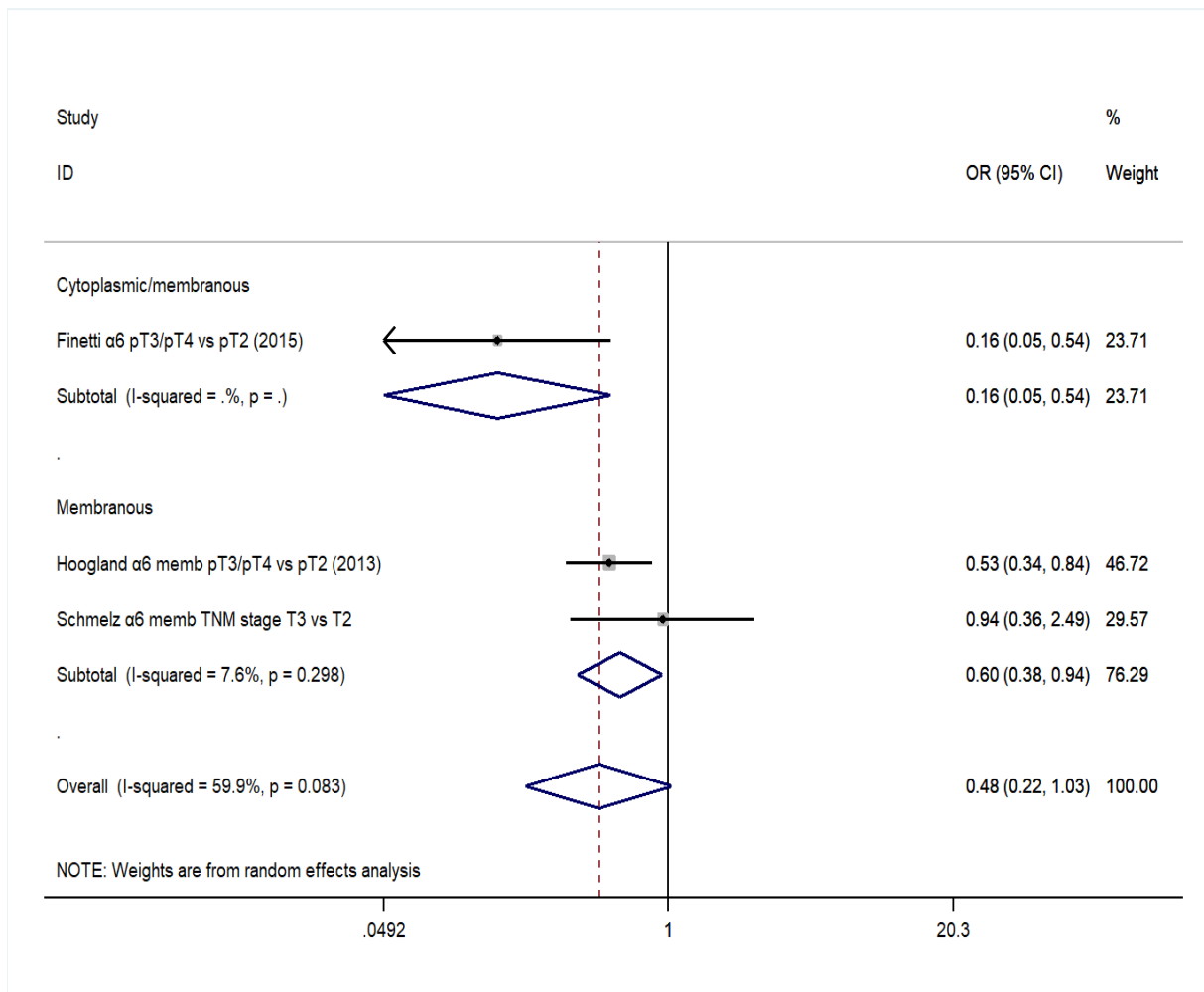
Η εκτίμηση της ετερογένειας έγινε με τον στατιστικό έλεγχο  $I^2$  και το οποίο υπολογίστηκε μεταξύ 0% και 75,7% στις μετα-αναλύσεις που έλαβαν χώρα. Αναλυτικά το  $I^2$  σ όλες τις διαθέσιμες μετα-αναλύσεις αναφέρεται στον πίνακα 2 του παραρτήματος.

## Εκτίμηση Ποιότητας

Η εκτίμηση της ποιότητας των επιλεγμένων μελετών όπως έχει ήδη αναφερθεί έγινε μέσω της κλίμακας Newcastle – Ottawa (Wells *et al*, 2020) και τα πλήρη αποτελέσματα της είναι διαθέσιμα στον πίνακα 3 του παραρτήματος. Στοιχείο περιορισμού της ποιότητας των μελετών ήταν το γεγονός ότι όλες οι αναλύσεις συσχέτισης της έκφρασης των Ιντεγκρινών με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά έγιναν με μονοπαραγοντική ανάλυση. Αντίθετα ήταν προς όφελος της ποιότητας των επιλεγμένων πληθυσμών η απουσία οποιουδήποτε στοιχείου περιορισμού κατά την διαλογή του συμμετέχοντα σ αυτές πληθυσμό. Επιπλέον προς όφελος της ποιότητας των μελετών καταγράφεται το γεγονός της αξιολόγησης της έκφρασης των Ιντεγκρινών ανοσοϊστοχημικά από δύο ανεξάρτητους παθολογοανατόμους καθώς και η διάγνωση του καρκίνου του Προστάτη ώστε να μπορέσουν να καταγραφούν τα δεδομένα των ασθενών στις επιμέρους μελέτες.

## Ιντεγκρίνη α<sub>6</sub>

Η σύνδεση της έκφρασης της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> με προχωρημένο στάδιο καρκίνου του προστάτη με βάση την σταδιοποίηση TNM αξιολογήθηκε σε 3 μελέτες ( Finetti *et al*. 2015. Hoogland *et al*. 2014, Schmelz *et al*. 2002) και αποτελέσματα της ανάλυσης αυτής παρουσιάζονται στην εικόνα 2.

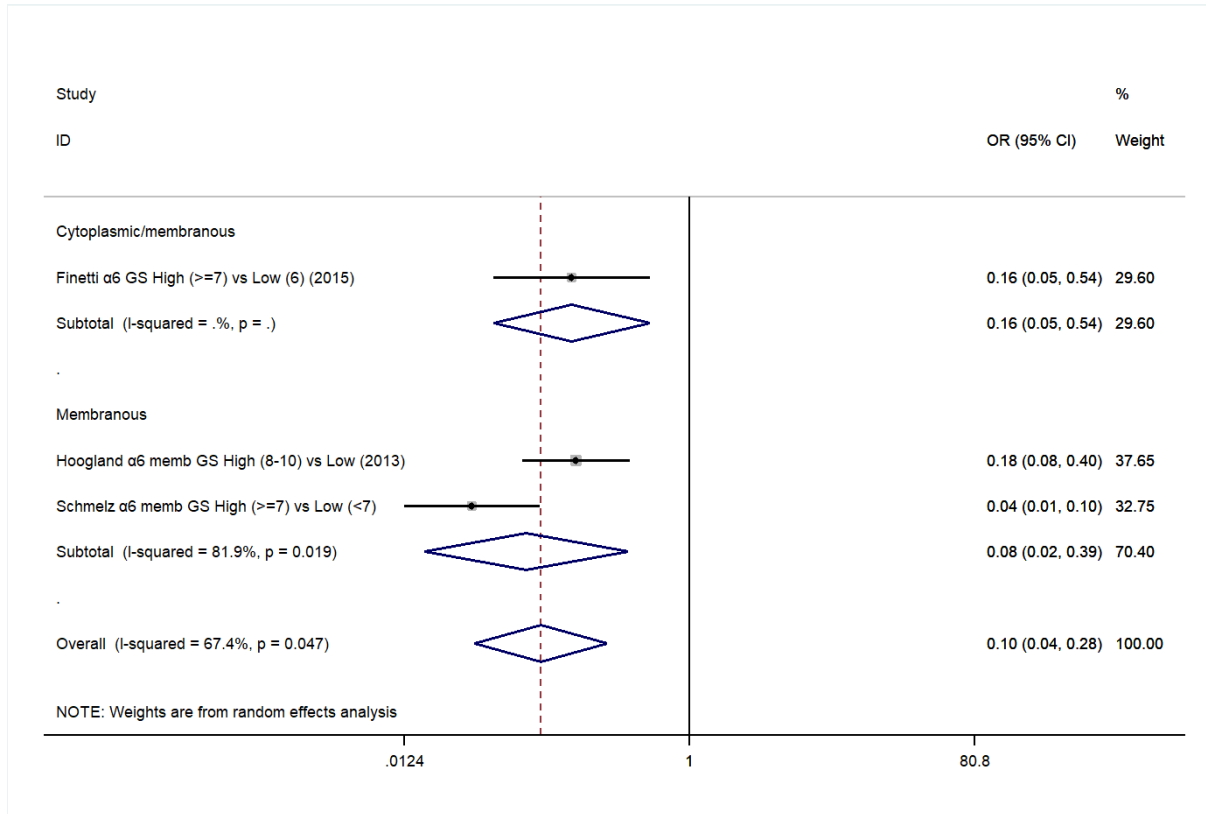


**Εικόνα 5: Σύνδεση Έκφρασης Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> και σταδίο TNM**

Στην ανάλυση αυτή προέκυψε μία οριακά μη σημαντική προστατευτική δράση της γενικής έκφρασης της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> έναντι της επιδείνωσης του καρκίνου του προστάτη καθώς τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης της συνδέθηκαν με χαμηλότερο στάδιο κατά την κλινικοπαθολογική εκτίμηση του όγκου ( OR= 0.48 , 0.22-1.03 με τον λόγο ετερογένειας I<sup>2</sup> να υπολογίζεται στο I<sup>2</sup>= 59.9%). Παρ' όλα αυτά στρωματοποιώντας τα δεδομένα με βάση τον κυτταρικό σχηματισμό που μετρήθηκε η έκφραση, η υψηλότερη έκφραση της στην μεμβράνη ( με δεδομένα δύο μελετών: Hoogland *et al.* 2014, Schmelz *et al.* 2002) δίνει σαφή και στατιστικά σημαντική προστατευτική δράση έναντι των υψηλότερων σταδίων καρκίνου με OR = 0.60 (0.38-0.94, I<sup>2</sup>= 7.6%)

Ομοίως με την σταδιοποίηση κατά TNM και στην ανάλυση σύνδεσης έκφρασης της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> με το υψηλότερο Gleason Score (GS > 7) προέκυψε η ίδια προστατευτική επίδραση. Συγκεκριμένα όπως φαίνεται και την εικόνα 3 από την ανάλυση των 3 μελετών μελέτες ( Finetti *et al.* 2015, Hoogland *et al.* 2014, Schmelz *et al.* 2002) που εξέτασαν την εν λόγω σύνδεση προέκυψε μία ισχυρή αρνητική σύνδεση μεταξύ των δύο μεταβλητών και

στατιστικά σημαντική (συνολικό OR=0.10, 95% CI: 0.04-0.28,  $p < 0.001$ ,  $I^2 = 67.4\%$ , Εικόνα 3). Η σύνδεση αυτή επιβεβαιώθηκε πλέον της γενικής έκφρασης και στην μεμβρανική έκφραση της πρωτεΐνης αναλύοντας τις δύο μελέτες που εξετάστηκε (OR=0.08, 95% CI: 0.02-0.39, 2 μελέτες,  $I^2 = 81.9\%$ , Εικόνα 3) (Hoogland *et al.* 2014, Schmelz *et al.* 2002).



**Εικόνα 6: Σύνδεση Έκφρασης Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> και Gleason Score**

Τα αποτελέσματα των δύο αυτών αναλύσεων παράλληλα με τις επιμέρους διαθέσιμες διαστρωματώσεις παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 2.

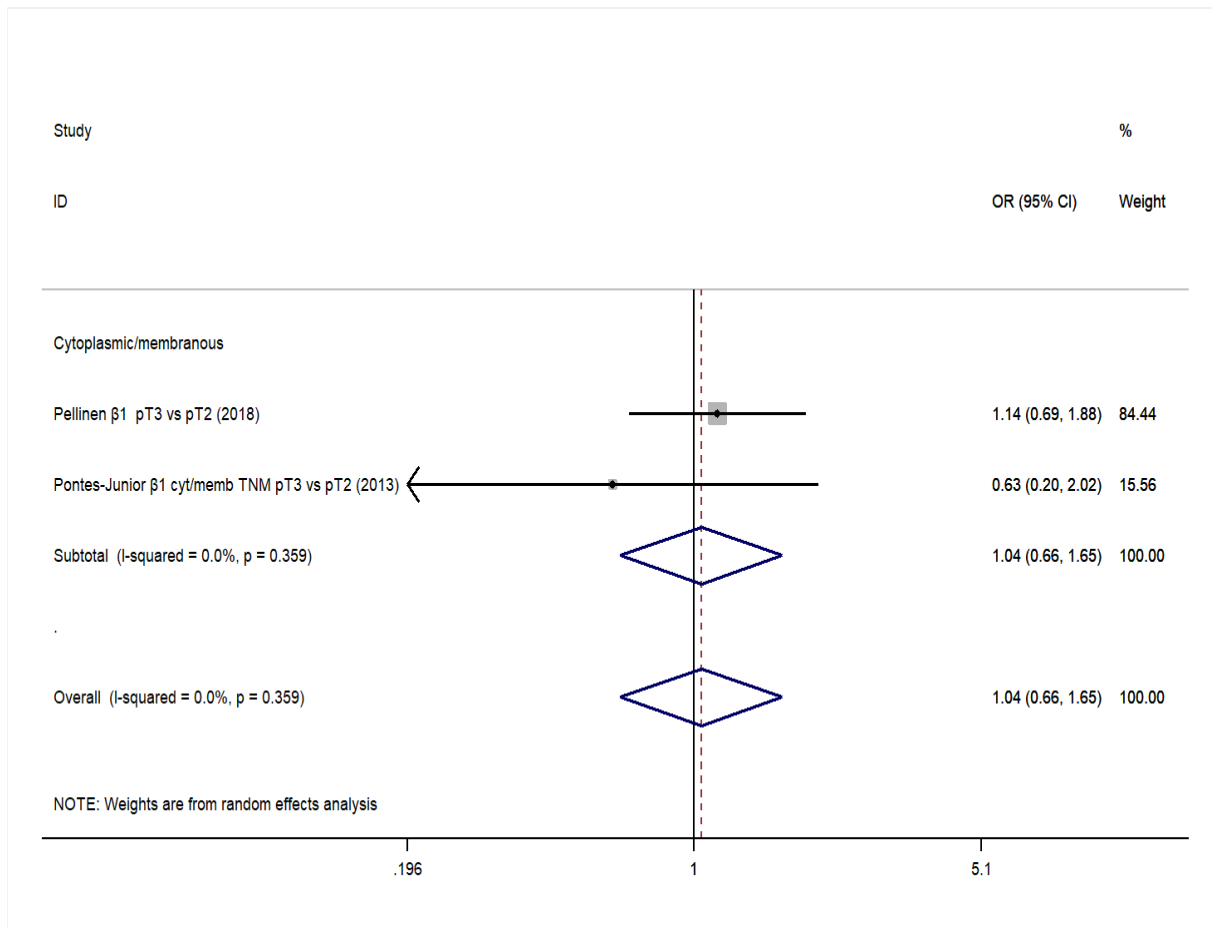
Παράλληλα με τις παράπανω μελέτες μία μελέτη (Hoogland *et al.* 2014) αξιολόγησε την σύνδεση μεταξύ της έκφρασης της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> με το ενδιάμεσο Gleason Score (τιμή GS=7) όπου φάνηκε χαμηλότερη έκφραση σ' αυτή την ομάδα ασθενών εν συγκρίσει με την ομάδα υψηλότερου σκορ (OR=0.58,  $p < 0.01$ ).

Τέλος στην ίδια μελέτη αυτή (Hoogland *et al.* 2014) φάνηκε η έκφραση της Ιντεγκρίνης α<sub>6</sub> να είναι σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με PSA ορού αίματος κατά την διάγνωση  $\leq 10$  ng/ml ( $p = 0.01$ ).

Τα διαθέσιμα δεδομένα από το σύνολο της βιβλιογραφίας δείχνουν συνολικά ένα μοτίβο σύνδεσης της υψηλότερης έκφρασης με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ηπιότερου τύπου καρκίνου του προστάτη

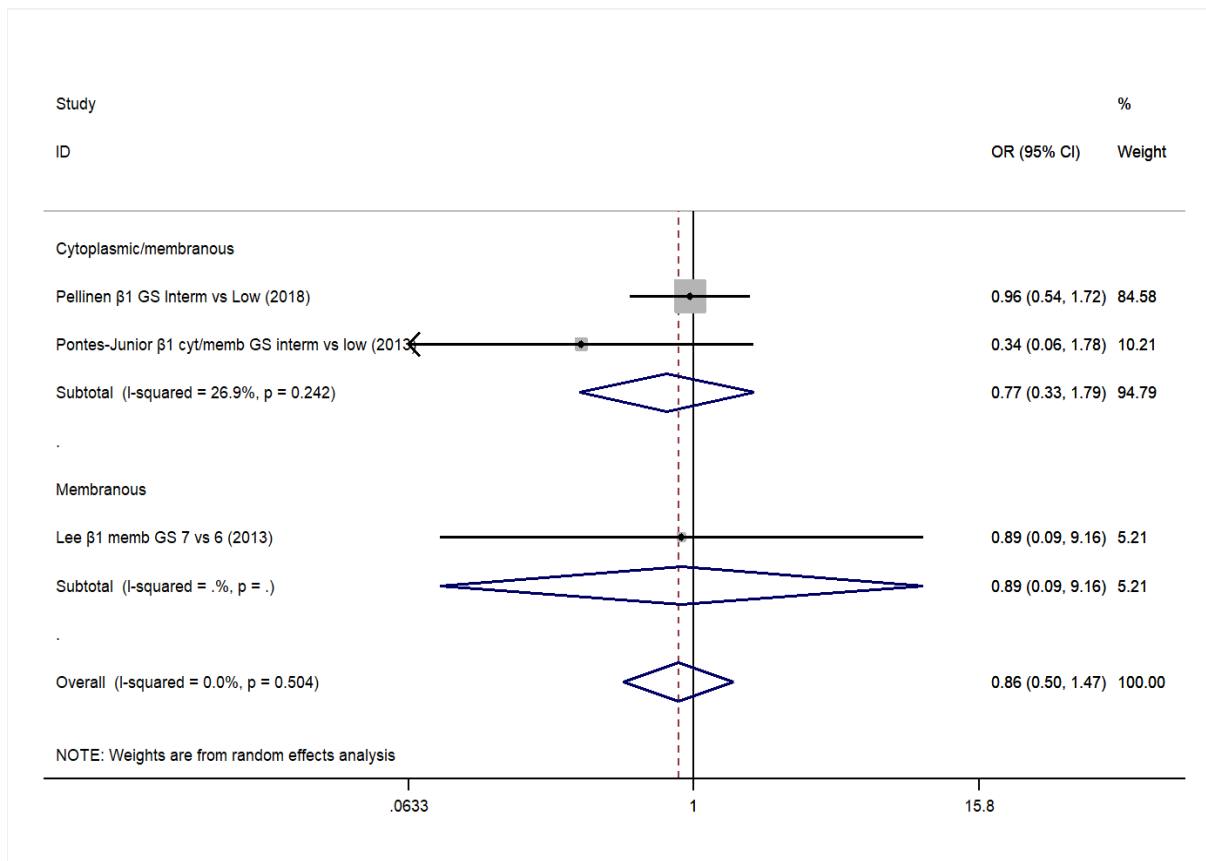
## Ιντεγκρίνη β<sub>1</sub>

Συνολικά η έκφραση της Ιντεγκρίνης β<sub>1</sub> και η σύνδεση της με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου εξετάστηκε σε 4 μελέτες (Lee *et al.* 2013, Pellinen *et al.* 2018, Pontes *et al.* 2013, Fornaro *et al.* 1996). Εξ' αυτών οι δύο (Pellinen *et al.* 2018, Pontes *et al.* 2013) μελέτησαν την σύνδεση μεταξύ της έκφρασης της Ιντεγκρίνης β<sub>1</sub> και του σταδίου καρκίνου κατά TNM ενώ οι τρεις (Lee *et al.* 2013, Pellinen *et al.* 2018, Pontes *et al.* 2013) με το μέσο Gleason Score (Score = 7). Τα αποτελέσματα των δύο αυτών αναλύσεων απεικονίζονται στις εικόνες 4 και 5 και από τα δενδρογράμματα και τον στατιστικό έλεγχο δεν προέκυψε στατιστική σημαντικότητα ούτε κάποια ισχυρή προστατευτική ή επιβαρυντική τάση.



Εικόνα 7: Σύνδεση έκφρασης Ιντεγκρίνης β<sub>1</sub> και σταδίου κατά TNM





**Εικόνα 8: Σύνδεση έκφρασης Ιντεγκρίνης β1 και Gleason Score**

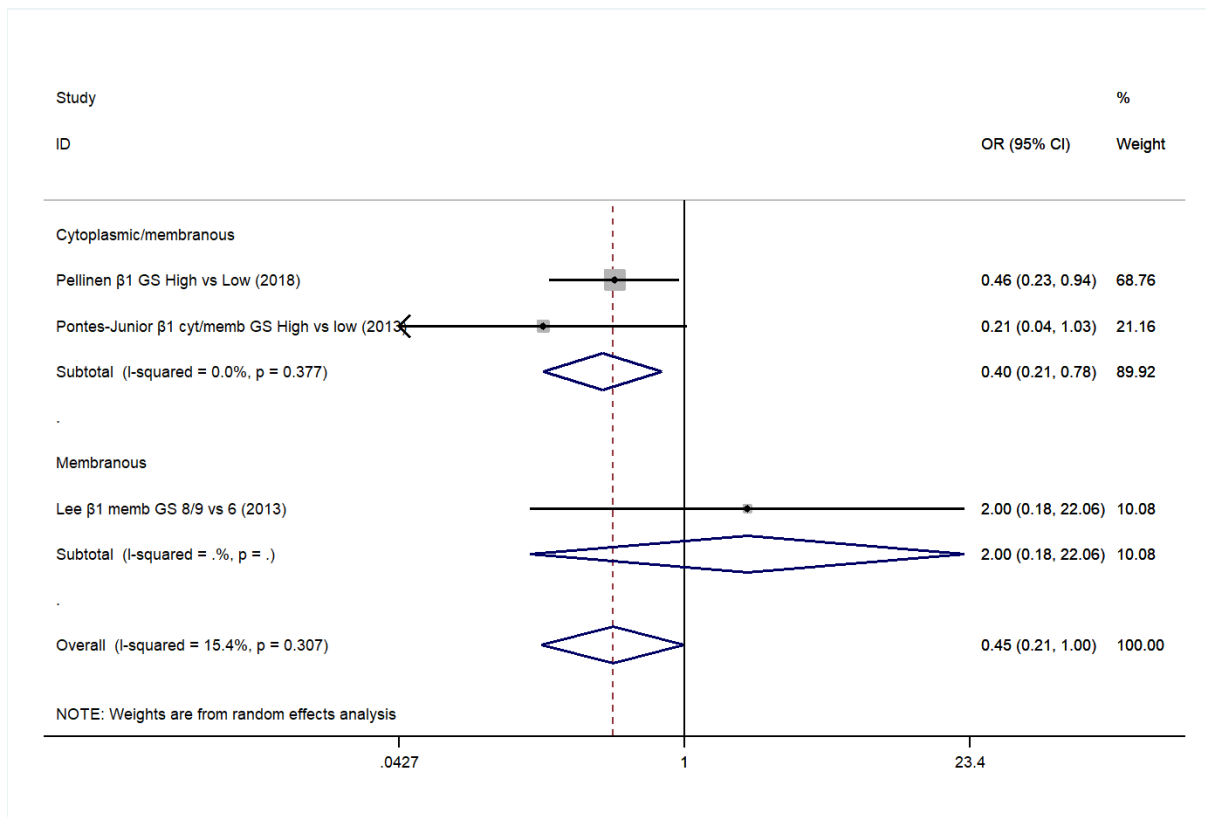
Αντίθετα όμως με τα προηγούμενα αποτελέσματα η ανάλυση σύνδεσης της έκφρασης της Ιντεγκρίνης β1 με το υψηλό Gleason Score ( $GS > 7$ ) και επομένως το πιο προχωρημένο στάδιο καρκίνου έδωσε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα ( $p=0.049$ , Εικόνα 6). Πιο συγκεκριμένα στην ανάλυση αυτή συμπεριλήφθηκαν 3 μελέτες (Lee *et al.* 2013, Pellinen *et al.* 2018, Pontes *et al.* 2013) και ο γενικός λόγος πιθανοτήτων που προέκυψε ήταν 0.45 (OR=0.45, 95% CI: 0.21-1.00,  $p=0.049$ ,  $I^2 = 15.4\%$ )

Ενδιαφέρον στοιχείο αυτής της ανάλυσης είναι ότι η φαινόμενη προστατευτική έκφραση της β1 έναντι των πιο προχωρημένων σταδίων του καρκίνου προκύπτει εκτός την ολικής ανάλυσης και στην επιμέρους ανάλυση που περιλαμβάνει και την εκφραζόμενη στο κυτταρόπλασμα Ιντεγκρίνη (Pellinen *et al.* 2018, Pontes *et al.* 2013). Τα αποτελέσματα και την ενδιάμεση αυτή ανάλυσης απεικονίζονται στην εικόνα 6 (pooled OR=0.40, 95% CI: 0.21-0.78, ,  $I^2 = 0.0\%$ ).

Ένα αντίστοιχο μοτίβο αρνητικής σύνδεσης με την έκφραση του PSA ορού αίματος κατά την διάγνωση προέκυψε και από την μία μελέτη που το ερεύνησε (Pontes *et al.* 2013). Πιο συγκεκριμένα η απώλεια της έκφρασης της Ιντεγκρίνης β1 συνδέθηκε με υψηλότερα επίπεδα PSA ορού με το  $p$  να υπολογίζεται στο 0.03 καθιστώντας την αρνητική αυτή σύνδεση στατιστικά σημαντική.

Αντίστοιχα με τις προηγούμενες μελέτες και επιβεβαιώνοντας την συνολικά παρατηρούμενη τάση σε μία από τις πρώτες βιβλιογραφικές αναφορές και έρευνες (Fornaro *et al.* 1996) η κυτταροπλασματική έκφραση της Ιντεγκρίνης β1 βρέθηκε να μειώνεται

σημαντικά ανεξαρτήτως του μοτίβου Gleason σε σχέση με τον φυσιολογικό υγιή ιστό επιθηλίου.

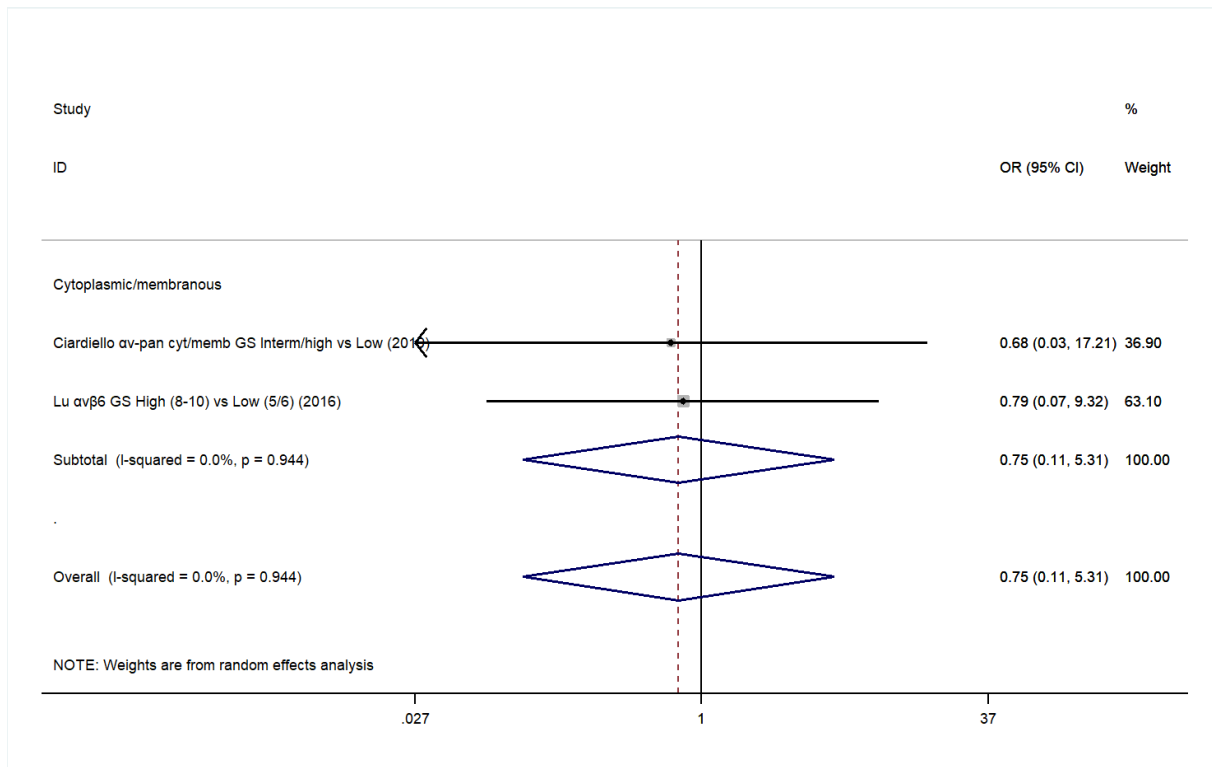


Εικόνα 9:Σύνδεση έκφρασης Ιντεγκρίνης β1 και υψηλό Gleason Score

## Ιντεγκρίνη α<sub>v</sub>

Δεδομένα έκφρασης και συσχέτισης με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά της Ιντεγκρίνης α<sub>v</sub> αναφέρθηκαν σε δύο μελέτες (Ciardiello *et al.* 2019, Lu *et al.* 2016). Κοινό σημείο διερεύνησης και αξιολόγησης και των δύο υπήρξε η σύνδεση με το Gleason Score όπου και στην συνολική ανάλυση δεν προέκυψε κάποια στατιστική σημαντικότητα στο αποτέλεσμα (pooled OR=0.75, 95% CI: 0.11-5.31, p= 0.772, I<sup>2</sup> = 0.0%, Εικόνα 7).

Παράλληλα με τις δύο αυτές εργασίας η έκφραση της Ιντεγκρίνης α<sub>v</sub> εξετάστηκε και σε μία τρίτη ερευνητική εργασία (Hess *et al.* 2014) όπου όμως τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά που αξιολογήθηκαν ήταν η σταδιοποίηση του καρκίνου κατά TNM και UICC. Στην ανάλυση αυτή δεν προέκυψαν στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα για την Ιντεγκρίνη α<sub>v</sub> τόσο για την ολική έκφραση της όσο και στην παρουσίαση ως ετεροδιμερές με την Ιντεγκρίνη β<sub>1</sub> ακολουθώντας το μοτίβο που προέκυψε τόσο από την μετα-ανάλυση όσο και από τα μεμονωμένα αποτελέσματα που έχουν περιγραφεί μέχρι στιγμής.



Εικόνα 10:Σύνδεση έκφρασης Ιντεγκρίνης  $\alpha_v$  και Gleason Score

## Ιντεγκρίνη $\alpha_2$

Η έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_2$  σε συνδυασμό με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά αναλύθηκε σε μία μελέτη ( Hoogland *et al.* 2014) και στην οποία αξιολογήθηκαν το PSA, το Gleason Score και το pT-stage.

Όσον αφορά το PSA ορού αίματος κατά την διάγνωση η έκφραση της  $\alpha_2$  συνδέθηκε με υψηλότερες τιμές PSA (>10 ng/ ml) αποτέλεσμα που ακολουθούταν από ισχυρή στατιστική σημαντικότητα.

Ανάλογα αποτελέσματα χωρίς όμως να επιτυγχάνουν στατιστική σημαντικότητα προέκυψαν σχετικά με το Gleason Score και το pT-stage όπου η έκφραση της  $\alpha_2$  βρέθηκε αυξημένη σε πιο προχωρημένα στάδια καρκίνου του προστάτη (p= 0.49 και p=0.77, αντίστοιχα)

## Ιντεγκρίνη $\alpha_3$

Μελέτη συσχέτισης της έκφρασης της Ιντεγκρίνης  $\alpha_3$  με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά αναφέρεται βιβλιογραφικά σε ένα άρθρο (Schmelz *et al.* 2002). Στην μελέτη αυτή εξετάστηκε η πιθανή συσχέτιση με τα επίπεδα PSA στον ορό αίματος και το Gleason Score σε 135 ασθενείς με επιβεβαιωμένο καρκίνο του προστάτη. Όπως και στις περισσότερες μελέτες η ανάλυση της έκφρασης έγινε ανοσοϊστοχημικά από δύο παθολογοανατόμους Η θετική σύνδεση που προέκυψε και για τα δύο αυτά χαρακτηριστικά δεν μπόρεσε να

επιβεβαιωθεί και στατιστικά παρά μόνο για την υπο-κατηγορία του υψηλού Gleason Score (GS>7) όπου προέκυψε  $p=0.0001$ .

### Ιντεγκρίνη $\alpha_5$

Αναφορές για την σύνδεση μεταξύ της έκφρασης της Ιντεγκρίνης  $\alpha_5$  με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά αναφέρονται σε μία μελέτη (Drivalos *et al.* 2016). Στην μελέτη αυτή εξετάστηκαν 157 διαγνωσμένοι ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και η αξιολόγηση της έκφρασης έγινε ανοσοϊστοχημικά στις διαθέσιμες βιοψίες τους. Η Ιντεγκρίνη  $\alpha_5$  βρέθηκε να εκφράζεται κυρίως στην κυτταρική μεμβράνη και η συγκέντρωση της ήταν σημαντικά υψηλότερη στον φυσιολογικό βλεννογόνο έναντι της αντίστοιχης στα καρκινικά κύτταρα ( $p < 0.001$ ). Αντίστοιχο αποτέλεσμα αρνητικής σύνδεσης προέκυψε και κατά την μελέτη με τα επίπεδα PSA στον ορό αίματος κατά την διάγνωση όπου ασθενείς με  $PSA > 20 \mu\text{g/ml}$  είχαν σημαντικά μειωμένη έκφραση της στην κυτταρική μεμβράνη έναντι των ασθενών με  $PSA \leq 10 \mu\text{g/ml}$  ( $p=0.017$ ). Αναμενόμενα με βάση τα προηγούμενα αποτελέσματα η έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_5$  βρέθηκε σημαντικά ελαττωμένη σε ασθενείς σταδίου pT3 καρκίνου του προστάτη έναντι των ασθενών pT2 σταδίου ( $p < 0.0001$ ). Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώθηκε και κατά την σταδιοποίηση του καρκίνου με βάση το Gleason Score όπου οι ασθενείς με υψηλό Gleason Score ( $GS > 7$ ) βρέθηκαν να έχουν σημαντικά μειωμένη έκφραση της τόσο σε σχέση με τους ασθενείς με μέσο score ( $GS=7$ ) όσο και μ' εκείνους με χαμηλό Gleason Score ( $GS < 7$ ), αποτέλεσμα με υψηλή στατιστική σημαντικότητα ( $p = 0.003$ ).

### Ιντεγκρίνη $\alpha_7$

Η μεμβρανική έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_7$  σε φυσιολογικό και καρκινικό ιστό και η σύνδεσή της με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά εξετάστηκε σε μία μελέτη (Drivalos *et al.* 2016).

Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση σε βιοψίες 157 ασθενών με διαγνωσμένο καρκίνο του προστάτη έδειξε σημαντικά υψηλότερη έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_7$  στο φυσιολογικό επιθήλιο έναντι των καρκινικών κυττάρων ( $p < 0.001$ ). Αναμενόμενα με βάση αυτό το αποτέλεσμα η αύξηση του Gleason Score συνοδευόταν από μείωση της εκφραζόμενης Ιντεγκρίνης ( $p = 0.001$ ). Αποτέλεσμα που επιβεβαιώθηκε και κατά την σταδιοποίηση του καρκίνου κατά TNM όπου οι pT2 σταδίου ασθενείς εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερη μεμβρανική έκφραση της  $\alpha_7$  έναντι των αντίστοιχων σταδίου pT3 ( $p < 0.05$ ). Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν και κατά την ανάλυση με το PSA ορού κατά την διάγνωση όπου οι ασθενείς με χαμηλό PSA ( $PSA < 10 \mu\text{g/ml}$ ) είχαν υψηλότερη έκφραση έναντι των αντίστοιχων με ενδιάμεσο ( $PSA 10 - 20 \mu\text{g/ml}$ ) και υψηλό ( $PSA 20 - 26 \mu\text{g/ml}$ ). Η αρνητική αυτή σύνδεση συνεχίστηκε και συγκρίνοντας την ομάδα ασθενών με ενδιάμεσο PSA έναντι των άλλων με υψηλό. Η αντίστροφη αυτή συσχέτιση επιβεβαιώθηκε και στατιστικά ανάμεσα σ' όλες τις υποκατηγορίες ασθενών ( $p = 0.003$ ).

## Ιντεγκρίνη β<sub>3</sub>

Η έκφραση της Ιντεγκρίνης β<sub>3</sub> ήταν αντικείμενο έρευνας σε μία μελέτη (Hess *et al.* 2014). Στην μελέτη αυτή που περιελάμβανε 1284 ασθενείς εκ των οποίων για τους 54 υπήρχαν δεδομένα ανοσοϊστοχημείας σε ολόκληρα τμήματα και στα οποία μετρήθηκε η Ιντεγκρίνη β<sub>3</sub> τόσο μεμονωμένα όσο και ως ετεροδιμερές με την Ιντεγκρίνη α<sub>v</sub>β<sub>3</sub>. Στα ιστοτεμάχια ασθενών που χρώστηκαν ανοσοϊστοχημικά η Ιντεγκρίνη α<sub>v</sub>β<sub>3</sub> ήταν μη ανιχνεύσιμη στα περισσότερα δείγματα του όγκου ενώ η β<sub>3</sub> Ιντεγκρίνη μπορεί επίσης να μην βρέθηκε να εκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα του προστάτη αλλά σε πολλές βιοψίες βρέθηκε να εκφράζεται στις περι-ογκικές αγγειακές δομές.

Επιμέρους ανάλυση σχετικά με την σύνδεση της έκφρασης και των δύο μορφών της β<sub>3</sub> (τόσο μονήρης όσο και ως ετεροδιμερές) με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά δεν υπήρξε στα πλαίσια της παρούσας δημοσίευσης.

## Ιντεγκρίνη β<sub>4</sub>

Η έκφραση της β<sub>4</sub> Ιντεγκρίνης, ανάμεσα και σ' άλλες Ιντεγκρίνες, ήταν αντικείμενο αξιολόγησης σε μία μελέτη (Schmelz *et al.* 2002). Στην εν λόγω μελέτη έγινε αναγνώριση της έκφρασης ανοσοϊστοχημικά σε 135 βιοψίες ασθενών και διερευνήθηκε η σύνδεσή της με το Gleason Score και το στάδιο TNM χωρίς όμως να δώσει για την β<sub>4</sub> αποτελέσματα.

## Ιντεγκρίνη β<sub>5</sub>

Η έκφραση της β<sub>5</sub> Ιντεγκρίνης μελετήθηκε σε μία μελέτη (Hess *et al.* 2014) ως ετεροδιμερές με την α<sub>v</sub> Ιντεγκρίνη. Αρχική στην μελέτη αυτή παρατηρήθηκε ότι στην πλειονότητα των καρκινικών, στρωματικών κυττάρων και νεοπλασματικών αδένων το ετεροδιμερές α<sub>v</sub>β<sub>5</sub> εκφραζόταν. Επιπλέον από την ανάλυση των κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών των ασθενών προέκυψε σύνδεση της έκφρασής της με το Gleason Score και την σταδιοποίηση κατά TNM. Η σύνδεση αυτή φαίνεται να είναι αρνητική με την χαμηλότερη αξιολόγηση και στα δύο αυτά κριτήρια του καρκίνου να συνδέεται με υψηλότερη έκφραση του ετεροδιμερούς χωρίς όμως να επιτυγχάνεται στατιστική σημαντικότητα σ' όλες τις επιμέρους συσχετίσεις. Συνοπτικά μόνο η έκφραση του ετεροδιμερούς α<sub>v</sub>β<sub>5</sub> στο κυτταρόπλασμα βρέθηκε να συνδέεται στατιστικά με τον μοτίβο Gleason ( $p=0.001$ ) και η μεμβρανική με το στάδιο του καρκίνου ( $p=0.024$ ).

## Ιντεγκρίνη β<sub>6</sub>

Η έκφραση της Ιντεγκρίνης β<sub>6</sub> μελετήθηκε σε μία μελέτη (Lu *et al.* 2016) ως ετεροδιμερές α<sub>v</sub>β<sub>6</sub> σε 47 αδenoκαρκινικά ιστοτεμάχια προστάτη ασθενών μετά από χειρουργική προστατεκτομή. Ο προσδιορισμός της έκφρασης έγινε ανοσοϊστοχημικά και τα δεδομένα

αναλύθηκαν για την αναγνώριση ενδεχόμενης συσχέτισης με το Gleason Score και το στάδιο κατά TNM. Για κανένα όμως από τα δύο αυτά κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά δεν προέκυψε στατιστικά σημαντικότητα κατά την επεξεργασία των δεδομένων.

## Συζήτηση

Το κύριο νόημα της παρούσας συστηματικής βιβλιογραφικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης είναι ο προστατευτικός ρόλος που φαίνεται να εμφανίζει η Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  στον καρκίνο του προστάτη τόσο σε σχέση με την σύνδεση της για το Gleason Score όσο και για την βιοχημική επανεμφάνιση ( αποτελέσματα και δεδομένα που αποτέλεσαν αντικείμενο έρευνας μετα-ανάλυσης διαφορετικού καταληκτικού σημείου με βάση τον ίδιο αλγόριθμο αναζήτησης και που δεν παρουσιάστηκαν στην παρούσα μελέτη.

Αντίστοιχα αποτελέσματα προέκυψαν και για την Ιντεγκρίνη  $\beta_1$  και την αρνητική σύνδεση της με το Gleason Score.

Τα δεδομένα της παρούσας συστηματικής βιβλιογραφικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης για την Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  όπως ήδη αναφέραμε φέρεται να έχει προστατευτική δράση έναντι της εξέλιξης του καρκίνου. Η προστατευτική της αυτή δράση φαίνεται να διατηρείται μάλιστα ανεξάρτητα του κυτταρικού σχηματισμού έκφρασης της αφού τόσο όταν εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα όσο και στην κυτταρική μεμβράνη συνεχίζει να συνδέεται αρνητικά με το Gleason Score. Η Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  είναι ένα υποδοχέας λαμινίνης ο οποίος εκφράζεται στην μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων. Διαδραματίζει ένα σημαντικό ρόλο στην διακυτταρική επικοινωνία και την κυτταρική θνητότητα (Colombel *et al.* 2012). Η μειωμένη έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_6$  επίσης φαίνεται να έχει επίδραση στην προσκόλληση των κυττάρων τόσο διακυτταρικά όσο και στο επιθήλιο καθώς και στην κυτταρική αλληλεπίδραση. Η δράση αυτή με την σειρά της παρέχει στα προστατικά επιθηλιακά κύτταρα να αποκτούν ένα πιο επιθετικό φαινότυπο που συνοδεύεται από πιο έντονα μεταναστευτικά, επιθετικά και μεσεγχευματικά χαρακτηριστικά. Ο φαινότυπος αυτός κλινικοπαθολογικά αποτυπώνεται με την αύξηση του Gleason Score αιτιολογώντας τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Ο ίδιος μηχανισμός αποτυπώνεται και σε μία άλλη κλίμακα αξιολόγησης του καρκίνου την κατά TNM σταδιοποίηση όπου η ρύθμιση της έκφρασης της Ιντεγκρίνης  $\alpha_6$  φαίνεται να εμπλέκεται στην δυνατότητα εισβολής των καρκινικών κυττάρων στους περιρρέοντες ιστούς και ακολούθως αλλοιώνοντας το μεταστατικό δυναμικό τους (Landowski *et al.* 2014, Rubenstein *et al.* 2019).

Παρ' όλα αυτά όμως αξίζει περισσότερη διερεύνηση το γεγονός ότι ενώ κλινικοπαθολογικά η Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  συνδέεται με πιο καλοήθεις μορφές καρκίνου στην βιοχημική υποτροπή μετά από την προστεκτομή δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση. Μία πιθανή εξήγηση θα μπορούσε να είναι ότι ενώ η Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  εμπλέκεται στην εξέλιξη και ανάπτυξη του όγκου στα αρχικά στάδια, όταν πλέον φτάνουμε στο σημείο της προστεκτομής εκεί πλέον αρχίζουν και συμμετέχουν διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια τα οποία έχουν

μικρή ή και καθόλου συνάφεια με την συγκεκριμένη οικογένεια υποδοχέων. Έτσι ο μηχανισμός υποτροπής μπορεί και να παραμένει εξαρτημένος από άλλη οικογένεια μορίων και υποδοχέων ( CXC χημειοκίνες – CXCR υποδοχείς) μία υπόθεση όμως που χρίζει περαιτέρω ανάλυσης.

Πλήθος δεδομένων από μελέτες ξενογραφικών μοντέλων ή και κυτταρικών σειρών *in vitro* στις οποίες απομονώθηκαν κύτταρα με αποκλίνουσα έκφραση της  $\alpha_6$ , βρέθηκαν τα τελευταία να φέρουν χαρακτηριστικά έναρξης του καρκίνου και έντονες δυνατότητες εισβολής στο περιβάλλον ενδοθήλιο. Συνολικά υποπληθυσμοί διαφορετικής έκφρασης της  $\alpha_6$  έχουν συνδεθεί τόσο με χαρακτηριστικά φυσιολογικού επιθηλίου όσο και με νεοπλασματικά σε σειρές ανθρωπίνων βλαστοκυττάρων, ανάλογα με την μεταβολή της οριζόμενης ως φυσιολογικής έκφρασης ( Leong *et al.* 2008). Από την άλλη πλευρά όμως η τόσο ευρεία συμμετοχή της Ιντεγκρίνης  $\alpha_6$  σε κυτταρικές διαδικασίες καθώς και στην ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου το προστάτη μπορεί να υποδεικνύει ότι η έκφραση της δεν περιορίζεται στα βλαστικά κύτταρα της περιοχής αλλά είναι παρούσα σε πολύ μεγαλύτερους κυτταρικούς πληθυσμούς (Mulholland *et al.* 2009).

Παράλληλα με την  $\alpha_6$  στην μελέτη μας προέκυψαν ενδιαφέροντα και στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα και γύρω από την επίδραση που μπορεί να έχει η Ιντεγκρίνη  $\beta_1$  στην αξιολόγηση και εξέλιξη του καρκίνου του προστάτη καθώς βρέθηκε να συνδέεται με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά της νόσου. Πιο συγκεκριμένα μέσα από την μετα-ανάλυση 3 μελετών με διαφορετικούς πληθυσμούς φαίνεται η χαμηλή της έκφραση να συνδέεται με το υψηλότερο Gleason Score στους ασθενείς αυτούς. Βέβαια είναι ενδιαφέρον ότι η σύνδεση αυτή αν και φαίνεται να επικρατεί σαν τάση δεν μπόρεσε εν τούτοις να επιβεβαιωθεί και στατιστικά γύρω από το ενδιάμεσο Gleason Score και το παθολογικό στάδιο του όγκου μέσω της σταδιοποίησης TNM. Η Ιντεγκρίνη  $\beta_1$  είναι γνωστό ότι κατέχει κύριο ρόλο στην σηματοδοτική επικοινωνία του κυττάρου με το περιβάλλον καθώς εκτός των άλλων μπορεί να επάγει την μετακίνηση των κυττάρων και τον επανακαθορισμό του κυτταροσκελετού επιτρέποντας έτσι την μετακίνηση του κυττάρου (Goel *et al.* 2008). Στην ίδια μελέτη επιπλέον φάνηκε και η ενεργοποίηση από την  $\beta_1$  διαφόρων σηματοδοτικών μονοπατιών τα οποία μπορούν να επάγουν την ανάπτυξη και την εξέλιξη του καρκίνου γεγονός που έρχεται εν μέρει σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της βιβλιογραφίας πάνω στην βιολογική αξιολόγηση των ασθενών. Επί προσθέτως αυτών των αποτελεσμάτων η ίδια ερευνητική ομάδα σε άλλη προγενέστερη δημοσίευση (Goel *et al.* 2005) είχαν ήδη επιδείξει μείωση της έκφρασης της  $\beta_1$  Ιντεγκρίνης με πολύ έως μέτρια διαφοροποιημένα κύτταρα καρκίνου του προστάτη. Μία πρώτη ανάγνωση αυτού του αποτελέσματος έρχεται σε ταύτιση με τα κλινικοπαθολογικά και επιδημιολογικά δεδομένα που έχουμε καθώς τελικά μπορεί να είναι η απουσία της αυτή που επάγει την εξέλιξη του όγκου σε κακοήθεια. Βέβαια από την άλλη μπορεί να είναι η ίδια η εξέλιξη των κυττάρων που καθιστά το σηματοδοτικό μονοπάτι της  $\beta_1$  δευτερεύουσας σημασίας για τον όγκο και γι αυτό κατά την ανάπτυξη του όγκου να παρατηρείται μείωση της έκφρασής της. Και στις δύο αυτές περιπτώσεις η έκφραση της μπορεί να είναι συνδεδεμένη με την σταδιοποίηση του καρκίνου, με κύρια όμως διαφορά μεταξύ τους ότι στο πρώτο ενδεχόμενο η απώλεια της έκφρασης της μπορεί να είναι προγνωστικός δείκτης για επιδείνωση του καρκίνου και στην δεύτερη διαγνωστικός για το

στάδιο στο οποίο βρίσκεται. Για την διαφοροποίηση και καλύτερη κατανόηση της κλινικής σημασίας σ αυτές τις δύο περιπτώσεις περισσότερες έρευνες χρειάζονται για την καλύτερη χαρτογράφηση των αλληλεπιδράσεων της και εν τέλει της λειτουργίας της. Όποια και από τις δύο (διαγνωστική η προγνωστική σχέση) και αν κρύβεται πίσω από αυτή την αλληλεπίδραση έρχεται τελικά να επιβεβαιώσει τα αποτελέσματά της παρούσας μελέτης τονίζοντας την σημασία της κλινικής της αξιολόγησης καθώς απώλειά της μπορεί να οδηγήσει στην μη προσκόλληση των κυττάρων με τα γειτονικά τους κύτταρα οδηγώντας από την πλευρά του Gleason Score σ ένα πιο επιθετικό κυτταρικό φαινότυπο. Συνεχίζοντας με την β<sub>1</sub> μία ακόμα πληροφορία που μας προκύπτει από την ανάλυση της σύνδεσής του με την εξέλιξη του όγκου είναι η ανάδειξη του ρόλου συνολικά των κυτταρικών μορίων προσκόλλησης στην καρκινογένεση και πως μπορούν με την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών τους να λειτουργήσουν ως προγνωστικός βιοδείκτης (Goel *et al.* 2008).

Μεταφερόμενοι όμως σε έναν διαφορετικό τύπο καρκίνου, τον καρκίνο των νεφρών, τα δεδομένα που υπάρχουν επίσης υποδεικνύουν ότι η μεγάλη ποικιλία εκφράσεων της β<sub>1</sub> Ιντεγκρίνης φαίνεται να επηρεάζει το μεταστατικό δυναμικό των κυττάρων (Oertl *et al.* 2006) αναγορεύοντας ως έναν ελκυστικό θεραπευτικό στόχο. Από την άλλη μία πρόσφατη μετα-αναλυση (Sum *et al.* 2018) που αξιολόγησε την έκφραση της β<sub>1</sub> μέσα σ ένα μεγάλο εύρος διαφορετικών μορφών συμπαγών καρκίνων ανέδειξε ένα αντίστροφο μοτίβο συσχέτισης μεταξύ της έκφρασής της και της εξέλιξης της νόσου σε δύο τύπους καρκίνου: τον καρκίνο του στήθους και του πνεύμονα. Στην μετα-ανάλυση αυτή η υψηλότερη έκφραση της β<sub>1</sub> Ιντεγκρίνης συνδέθηκε με μικρότερη επιβίωση, χωρίς όμως σ αυτή να γίνεται καμία αναφορά για τον καρκίνο του προστάτη.

Πέραν των δεδομένων των μετα-αναλύσεων υπήρξαν κάποια ενδιαφέροντα συμπεράσματα και από την ποιοτική ανάλυση των επιλεγμένων δημοσιεύσεων. Η αρνητική σύνδεση τριών διαφορετικών Ιντεγκρινών της α οικογένειας ( $\alpha_2$ ,  $\alpha_5$  &  $\alpha_7$ ) με το υψηλότερο PSA σε 2 διαφορετικές μελέτες (Hoogland *et al.* 2014, Drivalos *et al.* 2016) και μάλιστα με στατιστική σημαντικότητα είναι ένα από τα πιο ενδιαφέροντα ευρήματα. Μία υπόθεση γι' αυτό μπορεί να είναι ότι οι Ιντεγκρίνες της ίδιας οικογένειας διατελούν παρόμοια σηματοδότηση ενδο- και δια-κυτταρικά ή ακόμα και αν δεν μοιράζονται τα ίδια μονοπάτια ίσως μοιράζονται κοινούς επιγενετικούς στόχους. Με τους δύο αυτούς τρόπους μπορούν να καταλήγουν σε κοινή γενετική ρύθμιση που για κάποιους ειδικούς φαινότυπους (έκφραση PSA πχ) ν οδηγούν σε παρόμοια επίδραση. Ειδικότερα όταν ορίζεται το κατώφλι της χαμηλής συγκέντρωσης PSA στον ορό κατά την διάγνωση στα 10 ng/ml φαίνεται και οι 3 αυτές Ιντεγκρίνες να συνοδεύονται από υψηλή έκφραση η οποία ελλατώνεται καθώς κινούμαστε στις ομάδες ασθενών με υψηλότερη συγκέντρωση PSA.

Αναμενόμενα με βάση τα μέχρι τώρα αποτελέσματα και γι άλλες Ιντεγκρίνες προέκυψε αρνητική σύνδεση με τα πιο προχωρημένα στάδια καρκίνου όπως αυτά αποτυπώνονται κλινικοπαθολογικά μέσα από τις κλίμακες του Gleason Score και του TNM. Έτσι σε μελέτη 61 ασθενών από το πανεπιστήμιο της Αριζόνα (Schmelz *et al.* 2002) προέκυψε στατιστικά σημαντική αρνητική σύνδεση και για τις δύο αυτές κατηγοριοποιήσεις και ειδικότερα για το υψηλό Gleason Score.



Αντίστοιχα σε μελέτη 111 ασθενών από την Βραζιλία (Pontes *et al.* 2010) ενώ η υψηλή συγκέντρωση της  $\alpha_3$  Ιντεγκρίνης φαίνεται να συνδέεται με χαμηλότερα στάδια καρκίνου του προστάτη φαίνεται να συνδέεται και με την βιοχημική επιδείνωση της νόσου. Το αντιφατικό αυτό γεγονός θα μπορούσε να εξηγηθεί όπως και η αντίστοιχη παρατήρηση για την Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  όπου τα δύο αυτά μόρια μπορεί να καθυστερούν ή και να αναστέλλουν την ανάπτυξη του όγκου, όταν όμως εκείνος υπερβεί ένα κρίσιμο στάδιο και χρειάζεται χειρουργική αντιμετώπιση, εκεί πλέον ενεργοποιούνται διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια καθιστώντας τα αντίστοιχα των Ιντεγκρινών δευτερεύουσας σημασίας και η όποια προστατευτική δράση μπορεί να έχουν να υπερκεράζεται από διαφορετικούς μοριακούς μηχανισμούς.

Ένα ετεροδιμερές Ιντεγκρίνης το  $\alpha_5\beta_5$  βρέθηκε σε μελέτη 1284 ασθενών να συνδέεται στατιστικά τόσο με το μοτίβο Gleason όσο και με το στάδιο κατά TNM του καρκίνου (Hess *et al.* 2014). Το ενδιαφέρον αυτή της μελέτης είναι ότι η έκφραση σε διαφορετικό κυτταρικό διαμέρισμα συνδέθηκε με διαφορετικό καταληκτικό σημείο. Πιο συγκεκριμένα η κυτταροπλασματική έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_5\beta_5$  συνδέθηκε με το μοτίβο της νόσου κατά Gleason ενώ η μεμβρανική της έκφραση με την σταδιοποίηση κατά TNM. Η διαφοροποίηση αυτή μπορεί να οφείλεται και στο γεγονός ότι η μεμβρανική έκφραση είναι σε μεγάλο βαθμό υπεύθυνη για την διακυτταρική επικοινωνία καθώς και την επικοινωνία με την εξωκυττάρια μήτρα γεγονός που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό και την σταδιοποίηση καθώς καθορίζει τον βαθμό διείσδυσης και πιθανόν μετάστασης. Ακόμα θα το δούμε και παρακάτω πως η ενδοκυττάρια συγκέντρωση των Ιντεγκρινών επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό και από το εξωκυττάριο περιβάλλον και την μεμβρανική συγκέντρωση καθώς οι υποδοχείς αυτοί “ανακυκλώνονται” επιστρέφοντας ανενεργοί πίσω στην κυτταρική επιφάνεια.

Από την άλλη πλευρά μία πρόσφατη μετα-ανάλυση που αξιολόγησε (Desnoyers *et al.* 2020) την έκφραση της Ιντεγκρίνης  $\alpha_n$  ως ετεροδιμερές με την  $\beta_6$  σε συμπαγείς όγκους συνδέθηκε με επιδεινωμένη πρόγνωση επιβίωσης, με ανασταλτικό όμως παράγοντα τον περιορισμένο διαθέσιμο αριθμό μελετών για κάθε επιμέρους τύπο καρκίνου που εξετάστηκε.

Παρ όλη την ποιότητα των διαθέσιμων αποτελεσμάτων χρειάζονται περισσότερες μελέτες για την καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων ώστε να μπορέσουμε να αξιολογήσουμε αποτελεσματικότερα τις συνδέσεις αυτές τόσο προγνωστικά όσο και διαγνωστικά. Επιπλέον η καλύτερη σύνδεση των συνδέσεων αυτών είναι πολύ πιθανό να μας επιτρέψει να μπορέσουμε να χαρτογραφήσουμε τους πολύπλοκους μοριακούς και σηματοδοτικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην διεργασία δημιουργίας, ανάπτυξης και εν τέλει μετάστασης του καρκίνου.

Στην περίπτωση μάλιστα των Ιντεγκρινών οι μηχανισμοί αυτοί είναι τόσο πολύπλοκοι και η ρύθμιση τους τόσο ευαίσθητη και εξαρτώμενοι από πληθώρα διαφορετικών παραγόντων εξ ου και προκύπτουν ξεχωριστά και κάποιες φορές αντιφατικά δεδομένα για κάθε υπο μελέτη καταληκτικό σημείο αναλόγως της Ιντεγκρίνης που μελετάμε και του τύπου του καρκίνου.

Εστιάζοντας πέρα από τον φυσιολογικό τους ρόλο και στην ρύθμιση της έκφρασής τους ειδικά στην οικογένεια των Ιντεγκρινών πλήθος διαφορετικών παραγόντων εμπλέκονται και διαφορετικά σηματοδοτικά μονοπάτια ενεργοποιούνται όπως το FAK – PI3K / Akt-mTOR, cMet και οι MAPK κινάσες οι οποίες εμπλέκονται σε μεγάλο βαθμό στην εξέλιξη και

ανάπτυξη του καρκίνου (Guo *et al.* 2013, Stupack *et al.* 2001, Lotti *et al.* 2010). Τα μονοπάτια αυτά και η ενεργοποίησή τους καταλήγει στην μεταφορά του σήματος στον πυρήνα και συνεπακόλουθα την τροποποίηση του προφίλ έκφρασης των κυττάρων αυτών. Πέραν όμως της ρύθμισης των ογκογενών και ογκοκατασταλτικών γονιδίων που βρίσκονται καταληκτικά των μονοπατιών μέσω αυτών ρυθμίζεται και η μεταγραφή και μετάφραση των πρωτεϊνικών σχηματισμών των Ιντεγκρινών. Στις Ιντεγκρίνες όμως η λειτουργία τους στο κύτταρο δεν ρυθμίζεται μόνο από την απλή αύξηση της έκφρασής τους αλλά υπάρχουν και επιπλέον επίπεδα ρύθμισης του όπως αναφέραμε. Πιο συγκεκριμένα οι ιντεγκρίνες συνεχώς οδηγούνται στην ενδοκυττάρωση και ακολουθεί η ‘ανακύκλωσή’ τους στην μεμβράνη με την κινητική αυτή να διαταράσσεται στις περιπτώσεις των καρκίνων οδηγώντας σε μεταβολή του αριθμού και επομένως την αναλογίας στην οποία απαντώνται στην κυτταρική επιφάνεια (De Franceschi *et al.* 2015, Paul *et al.* 2015). Επιπλέον στα φυσιολογικά κύτταρα η ενεργοποίησή τους είναι υπό στενό έλεγχο και τυχόν μεταβολές της μπορούν να προσδώσουν στα κύτταρα ογκογενετικές δυνατότητες μέσω της αλλαγής της σηματοδότησης που προκαλούν. Όλοι αυτοί οι εμπλεκόμενοι σηματοδοτικοί και ρυθμιστικοί τους μηχανισμοί καθιστούν την ανάγκη για περαιτέρω μελέτες απαραίτητη ώστε να μπορέσουμε να κατανοήσουμε καλύτερα τους μηχανισμούς μέσω των οποίων μπορούν να εξηγηθούν τα αποτελέσματα της παρούσας μετα-ανάλυσης.

Οι περιορισμοί της παρούσας συστηματικής ανασκόπησης και μετα-ανάλυσης κατά κύριο λόγο περιορίζονται στο γεγονός των λίγων επιλέξιμων μελετών που βρέθηκαν για κάθε καταληκτικό σημείο που εξετάστηκε. Αριθμός που μειώθηκε περαιτέρω αναζητώντας τις αναλύσεις για κάθε ετεροδιμερές ή υπο-μονάδα ιντεγκρινών που εξετάστηκε και εντοπίστηκε στο σύνολο της βιβλιογραφίας. Η μονοπαραγοντική ανάλυση της αξιολόγησης σύνδεσης μεταξύ της έκφρασης τους και των κλινικοπαθολογικών χαρακτηριστικών επίσης αποτέλεσε επιβαρυντικό παράγοντα στην συνολική βαρύτητα του αποτελέσματος. Η αξιολόγηση της έκφρασης έγινε μέσω ανασοϊστοχημείας στην μεγάλη πλειοψηφία των μελετών και πιο περίπλοκες διαδικασίες όπως η τεχνική Western Blot, και η κυτταρομετρία ροής αναφέρθηκαν μόνο σε μία μικρή υποκατηγορία δημοσιεύσεων.

Συνολικά τα αποτελέσματά μας υποδεικνύουν ένα ενεργό ρόλο για τις Ιντεγκρίνες στον καρκίνο του προστάτη και μελλοντικά επιπλέον μελέτες που θα αξιολογούν το σύνολο των υπομονάδων Ιντεγκρίνης θα μπορέσουν να επιβεβαιώσουν σε ακόμα μεγαλύτερο ποσοστό τα δεδομένα που προέκυψαν.

## Συμπεράσματα

Η συστηματική αυτή ανασκόπηση και μετα-ανάλυση είναι η πρώτη που συγκεντρώνει και ποσοτικοποιεί όλα τα διαθέσιμα βιβλιογραφικά δεδομένα γύρω από την έκφραση των Ιντεγκρινών και την σύνδεση τους με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του προστάτη.

Ειδικότερα η Ιντεγκρίνη  $\alpha_6$  φαίνεται να έχει ένα προστατευτικό ρόλο στον καρκίνο του προστάτη καθώς επιδεικνύει αντίστροφη σύνδεση τόσο με το Gleason Score όσο και με την βιοχημική υποτροπή μετά από την προστατεκτομή.

Ομοίως με την  $\alpha_6$  και η  $\beta_1$  Ιντεγκρίνη εμφανίζεται να έχεις επίσης προστατευτικό ρόλο καθώς ακολουθεί ένα παρόμοιο προφίλ αρνητικής σύνδεσης με το Gleason Score.

Επιπλέον έρχονται και πάλι στο προσκήνιο μέσω αυτής της μετα-ανάλυσης οι Ιντεγκρίνες ως μόρια προσκόλλησης ( αλλά και συνολικά η κατηγορία αυτή των πρωτεϊνικών μορίων) σαν πιθανοί προβλεπτικοί και διαγνωστικοί βιοδείκτες του καρκίνου του προστάτη.

Παρ' όλα αυτά είναι απαραίτητο να υπάρξουν και νεότερα δεδομένα πάνω στην πλειοψηφία των Ιντεγκρινών, των λειτουργιών τους και της ρύθμισής τους ώστε να προκύψουν και πιο ασφαλείς υποθέσεις και εξηγήσεις γύρω από την δράση τους και την επίπτωση της στην κυτταρική ομοιόσταση αλλά και παθολογικά την ανάπτυξη του καρκίνου

## Χρηματοδότηση

Δεν υπήρξε καμία χρηματοδότηση για την εκτέλεση της παρούσας μελέτης

## Σύγκρουση Συμφερόντων

Δεν υπάρχει καμία σύγκρουση συμφερόντων

## Βιβλιογραφία

- Ahmed N, Riley C, Rice GE, et al. Alpha(v)beta(6) integrin-A marker for the malignant potential of epithelial ovarian cancer [J]. *J Histochem Cytochem*, 2002, 50(10): 1371-1380
- Arruda Macêdo JK, Fox JW, de Souza Castro M. Disintegrins from snake venoms and their applications in cancer research and therapy. *Curr Protein Pept Sci*. 2015; 16:532–548. [PubMed:26031306]
- Berrier AL, Yamada KM, et al. Cell-matrix adhesion [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 213(3): 565-573
- Bianconi D, Unseld M, Prager GW, et al. Integrins in the spot-light of cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(12)
- Bouvard D, Pouwels J, De Franceschi N, Ivaska J. Integrin inactivators: balancing cellular functions in vitro and in vivo. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013; 14:430–442. [PubMed: 23719537]
- Chen JC, Yang ST, Lin CY, et al. BMP-7 enhances cell migration and alphavbeta3 integrin expression via a c-Src-dependent pathway in human chondrosarcoma cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112636
- Ciardello C, Leone A, Lanuti P, Roca MS, Moccia T, Minciacchi VR, et al. Large oncosomes overexpressing integrin alpha-V promote prostate cancer adhesion and invasion via AKT activation. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38(1)
- Colombel M, Eaton CL, Hamdy F, Ricci E, Van Der Pluijm G, Cecchini M, et al. Increased expression of putative cancer stem cell markers in primary prostate cancer is associated with progression of bone metastases. *Prostate*. 2012 May;72(7):713–20
- De Franceschi N, Hamidi H, Alanko J, Sahgal P, Ivaska J. Integrin traffic - the update. *J Cell Sci*. 2015; 128:839–852. [PubMed: 25663697]
- Demetriou MC, Cress AE. Integrin clipping: a novel adhesion switch? *J Cell Biochem* 2004;91:26-35
- Desnoyers A, González C, Pérez-Segura P, Pandiella A, Amir E, Ocaña A. Integrin  $\alpha\beta 6$  Protein Expression and Prognosis in Solid Tumors: A Meta-Analysis [Internet]. Vol. 24, *Molecular Diagnosis and Therapy*. Adis; 2020 [cited 2020 Jun 27]. p. 143–51
- Drivalos A, Chrisofos M, Efstathiou E, Kapranou A, Kollaitis G, Koutlis G, et al. Expression of  $\alpha 5$ -integrin,  $\alpha 7$ -integrin, E-cadherin, and N-cadherin in localized prostate cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2016 Apr 1;34(4):165.e11-165.e18
- Finetti F, Terzuoli E, Giachetti A, Santi R, Villari D, Hanaka H, et al. MPGES-1 in prostate cancer controls stemness and amplifies epidermal growth factor receptor-driven oncogenicity. *Endocr Relat Cancer*. 2015 Aug 1;22(4):665–78
- Fornaro M, Manes T, Languino LR. Integrins and prostate cancer metastases. *Cancer Metastasis Rev* 2001; 20:321-331.
- Fornaro M, Tallini G, Bofetiado CJM, Bosari S, Languino LR. Down-regulation of  $\beta(1C)$  integrin, an inhibitor of cell proliferation, in prostate carcinoma. *Am J Pathol*. 1996 Sep;149(3):765–73

Goel HL, Breen M, Zhang J, Das I, Aznavoorian-Cheshire S, Greenberg NM, et al.  $\beta$ 1A integrin expression is required for type 1 insulin-like growth factor receptor mitogenic and transforming activities and localization to focal contacts. *Cancer Res.* 2005 Aug 1;65(15):6692–700.

Goel HL, Li J, Kogan S, Languino LR. Integrins in prostate cancer progression. Vol. 15, *Endocrine-Related Cancer*. 2008. p. 657–64

Guo X, Zhao B. Integration of mechanical and chemical signals by YAP and TAZ transcription coactivators [Internet]. Vol. 3, *Cell and Bioscience*. Cell Biosci; 2013

Hamidi H, Ivaska J. Every step of the way: integrins in cancer progression and metastasis *Nat Rev Cancer*. 2018 Sep 1; 18(9): 533–548

Hamidi H, Pietila M, Ivaska J, et al. The complexity of in-tegrins in cancer and new scopes for therapeutic targeting [J]. *Br J Cancer*, 2016, 115(9): 1017-1023

Hira Lal Goel, Naved Alam, Isaac N.S. Johnson & Lucia R. Languino *Am J Transl Res* 2009;1(3):211-220

Heß K, Böger C, Behrens HM, Röcken C. Correlation between the expression of integrins in prostate cancer and clinical outcome in 1284 patients. *Ann Diagn Pathol*. 2014;18(6):343–50.

Higgins JT. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions | Cochrane Training*. Version 6, 2019 [Internet]. 2019 [cited 2020 Jun 15]. Available from: <https://training.cochrane.org/handbook/current>

Hoogland AM, Verhoef EI, Roobol MJ, Schröder FH, Wildhagen MF, Van Der Kwast TH, et al. Validation of stem cell markers in clinical prostate cancer:  $\alpha$ 6-Integrin is predictive for non-aggressive disease. *Prostate*. 2014 May;74(5):488–96

Horton ER, et al. Definition of a consensus integrin adhesome and its dynamics during adhesion complex assembly and disassembly. *Nat Cell Biol*. 2015; 17:1577–1587. [PubMed: 26479319]

Humphries JD, Byron A, Humphries MJ. Integrin ligands at a glance. *J Cell Sci*. 2006; 119:3901–3903. [PubMed: 16988024]

Kim EJ, Kwon KA, Lee YE, et al. Korean Red Ginseng extract reduces hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition by repressing NF-kappaB and ERK1/2 pathways in colon cancer [J]. *J Ginseng Res*, 2018, 42(3): 288-297

Landowski TH, Gard J, Pond E, Pond GD, Nagle RB, Geffre CP, et al. Targeting integrin  $\alpha$ 6 stimulates curative-type bone metastasis lesions in a xenograft model. *Mol Cancer Ther* [Internet]. 2014 [cited 2020 Jun 20];13(6):1558–66

Larsen AB, Stockhausen MT, Poulsen HS, et al. Cell adhesion and EGFR activation regulate EphA2 expression in cancer [J]. *Cell Signal*, 2010, 22(4): 636-644

Lee YC, Jin JK, Cheng CJ, Huang CF, Song JH, Huang M, et al. Targeting constitutively activated  $\beta$ 1 integrins inhibits prostate cancer metastasis. *Mol Cancer Res*. 2013 Apr;11(4):405–17

Leong KG, Wang BE, Johnson L, Gao WQ. Generation of a prostate from a single adult stem cell. *Nature*. 2008 Dec 11;456(7223):804–10

Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. In: *Journal of clinical epidemiology*. *J Clin Epidemiol*; 2009. p. e1–34

Lotti R, Marconi A, Truzzi F, Dallaglio K, Gemelli C, Borroni RG, et al. A previously unreported function of B1 B integrin isoform in caspase-8-dependent integrin-mediated keratinocyte death. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2010 [cited 2020 Jun 27];130(11):2569–77

Lu H, Wang T, Li J, Fedele C, Liu Q, Zhang J, et al.  $\alpha\beta6$  integrin promotes castrate-resistant prostate cancer through JNK1-mediated activation of androgen receptor. *Cancer Res*. 2016 Sep 1;76(17):5163–74

Mahabeleshwar GH, Chen J, Feng W, et al. Integrin affinity modulation in angiogenesis [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(3): 335- 347

Mulholland DJ, Xin L, Morim A, Lawson D, Witte O, Wu H. Lin-Sca-1+CD49<sup>high</sup> stem/progenitors are tumor-initiating cells in the Pten-null prostate cancer model. *Cancer Res*. 2009 Nov 15;69(22):8555–62

Oertl A, Relja B, Makarevic J, Weich E, Höfler S, Jones J, et al. Altered expression of  $\beta1$  integrins in renal carcinoma cell lines exposed to the differentiation inducer valproic acid. *Int J Mol Med*. 2006 Aug 1;18(2):347–54

Paul NR, Jacquemet G, Caswell PT. Endocytic Trafficking of Integrins in Cell Migration. *Curr Biol*. 2015; 25:1092

Pellinen T, Blom S, Sánchez S, Välimäki K, Mpindi JP, Azegrouz H, et al. ITGB1-dependent upregulation of Caveolin-1 switches TGF $\beta$  signalling from tumour-suppressive to oncogenic in prostate cancer. *Sci Rep*. 2018 Dec 1;8(1).

Pontes J, Reis ST, Bernardes FS, Oliveira LCN, de Barros ÉAF, Dall'Oglio MF, et al. Correlation between Beta1 integrin expression and prognosis in clinically localized prostate cancer. *Int Braz J Urol*. 2013;39(3):335–43

Psaltopoulou T, Sergentanis TN, Panagiotakos DB, Sergentanis IN, Kosti R, Scarmeas N. Mediterranean diet, stroke, cognitive impairment, and depression: A meta-analysis. *Ann Neurol*. 2013 Oct;74(4):580–91

Rubenstein CS, Gard JMC, Wang M, McGrath JE, Ingabire N, Hinton JP, et al. Gene editing of  $\alpha6$  integrin inhibits muscle invasive networks and increases cell-cell biophysical properties in prostate cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2019 Sep 15 [cited 2020 Jun 20];79(18):4703–14.

Schmelz M, Cress AE, Scott KM, Burger F, Cui H, Sallam K, et al. Different Phenotypes in Human Prostate Cancer:  $\alpha6$  or  $\alpha3$  Integrin in Cell-extracellular Adhesion Sites. *Neoplasia*. 2002;4(3):243–54

Schnittert J, Bansal R, Storm G, et al. Integrins in wound healing, fibrosis and tumor stroma: High potential targets for therapeutics and drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 129: 37-53

Shattil SJ, Ginsberg MH. Integrin signaling in vascular biology [J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(11 Suppl): S91-95

Sheldrake HM, Patterson LH. Strategies to inhibit tumor associated integrin receptors: rationale for dual and multi-antagonists. *J Med Chem.* 2014; 57:6301–6315. [PubMed: 24568695]

Stupack DG, Puente XS, Boutsaboualoy S, Storgard CM, Cheresch DA. Apoptosis of adherent cells by recruitment of caspase-8 to unligated integrins. *J Cell Biol* [Internet]. 2001 Nov 12 [cited 2020 Jun 27];155(4):459–70

Sun Q, Zhou C, Ma R, Guo Q, Huang H, Hao J, et al. Prognostic value of increased integrin-beta 1 expression in solid cancers: A meta-analysis [Internet]. Vol. 11, *OncoTargets and Therapy.* Dove Medical Press Ltd.; 2018 [cited 2020 Jun 24]. p. 1787–99

Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos PT. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses [Internet]

Winograd-Katz SE, Fässler R, Geiger B, Legate KR. The integrin adhesome: from genes and proteins to human disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014; 15:273–288. [PubMed: 24651544]

Xia H, Nho RS, Kahm J, et al. Focal adhesion kinase is up-stream of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt in regulating fibroblast survival in response to contraction of type I collagen matrices via a beta 1 integrin viability signaling pathway [J]. *J Biol Chem,* 2004, 279(31): 33024-33034

Zaidel-Bar R, Itzkovitz S, Ma'ayan A, Iyengar R, Geiger B. Functional atlas of the integrin adhesome. *Nat Cell Biol.* 2007; 9:858–867. [PubMed: 17671451]

## Παράρτημα

**Πίνακας 1:** Εξαγόμενα Δεδομένα από τις επιλεγμένες μελέτες

Μελέτη	Ηλικιακό Εύρος	Μέση Ηλικία	Ήπειρος	Αριθμός ασθενών	Περίοδος Μελέτης	Υπό μελέτη Ιντεγκρίνες	Κυτταρικό διαμέρισμα έκφρασης Ιντεγκρίνης	Δείγματα που αναλύθηκαν	Καταληκτικά σημεία μελέτης	Κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά που μελετήθηκαν	Μέθοδος προσδιορισμού έκφρασης Ιντεγκρίνης	Κατηγοριοποίηση της έκφρασης των Ιντεγκρινών
Ciardello (2019)	NR	NR	Ευρώπη	103	2005-2014	αν	Κυτταροπλασματική & μεμβρανική	Ριζική Προστατεκτομή	Προγνωση	Gleason Score	Ανοσοϊστοχημική	
Pellinen (2018)	NR	NR	Ευρώπη	435	NR	β1	Κυτταροπλασματική & membranous	Βιοψία	Βαθμός, Στάδιο	Gleason Score, TNM Στάδιο	Western Blotting	Αρνητική, Ασθενής, Μέση, Υψηλή
Lu (2016)	40-85	NR	ΗΠΑ	47 (+8,+13)	NR	ανβ6	Κυτταροπλασματική & membranous	Ριζική Προστατεκτομή	Έκφραση, Gleason	Gleason Score	Ανοσοϊστοχημική	
Drivalos (2015)	50-72		Ευρώπη	157	2002-2009	α5, α7	Μεμβρανική	Ριζική Προστατεκτομή	Βαθμός, Στάδιο	TNM Στάδιο, PSA, Gleason Score, Μετάσταση Λεμφαδένων	Ανοσοϊστοχημική	Χαμηλή, Υψηλή
Finetti (2015)	41-78	67,7	Ευρώπη	52	NR	α6	Κυτταροπλασματική & Μεμβρανική	Ριζική Προστατεκτομή	Βαθμός, Στάδιο	Gleason Score, TNM Στάδιο	Ανοσοϊστοχημική	
Hess (2014)	NR	65,1	Ευρώπη	1284	1997-2011	ανβ5, β3, ανβ6, ανβ8 & αν-pan	Basal, Κυτταροπλασματική, Μεμβρανική	Ριζική Προστατεκτομή	Επιβίωση, Βαθμός, Στάδιο	TNM Στάδιο, UICC, Gleason Pattern, Ολική Επιβίωση, Καρκινο-Σχετιζόμενη Επιβίωση	Ανοσοϊστοχημική	



Hoogland (2013)	55.4–75.1	64,76	Ευρώπη	481	1987-2010	α2, α6	Μεμβρανή	Ριζική Προστατεκτομή	Survival, Βαθμός, Στάδιο	PSA, Gleason Score, TNM Στάδιο, Επιβίωση	Ανοσοϊστοχημική	Χαμηλή < 5%, Υψηλή > 5%
Ricci (2013)	NR	NR	Ευρώπη	161	2007-2010	α2,α6	NA	Ριζική Προστατεκτομή	Survival	Βιοχημική Επιδείνωση, Καρκινο-Σχετιζόμενη Επιβίωση	Flow Cytometry	Χαμηλή <0,1% Υψηλή >0,1%
Pontes-Júnior (2013)	41-79	65	Λατινική Αμερική	111	1/1994 – 4/2000	β1	Κυτταροπλασματική & membranous	Ριζική Προστατεκτομή		TNM Στάδιο, Gleason Score, PSA, BR Μετά RP	Ανοσοϊστοχημική	(-),(+)=Χαμηλή (++),(+++)=Υψηλή
Lee (2013)	NR	NR	ΗΠΑ	20	NR	β1	Μεμβρανή	NS	integrins Expression	Gleason Score	Ανοσοϊστοχημική	Θετική >10% των κυττάρων του όγκου
Pontes-Júnior (2010)	NR	NR	Λατινική Αμερική	111	1994-2000	α2β1,ανβ3,αIIβ3,α-ν,α3β1,α3,β4,α6	Κυτταροπλασματική & membranous	Ριζική Προστατεκτομή	Prognosis	Βιοχημική Επιδείνωση μετά RP	Ανοσοϊστοχημική	
Schmelz (2002)	NR	NR	ΗΠΑ	135 (61)	1993-1999	α6,α3,β4	Μεμβρανή	Biopsy		Gleason Score, TNM Στάδιο	Ανοσοϊστοχημική	1=0-25%, 2=25-50%, 3=50-75%, 4=75-100%
Fornaro (1996)	NR	NR	ΗΠΑ	34	NR	β1C, β1A	Μεμβρανή	Ριζική Προστατεκτομή	Βαθμός	Gleason Pattern	Ανοσοϊστοχημική	
Nagle (1995)	NR	NR	ΗΠΑ	39	NR	α6	Μεμβρανή	Ριζική Προστατεκτομή	Integrins Expression	Gleason Pattern	Ανοσοϊστοχημική	

**Πίνακας 2:** Αποτελέσματα των μετα-αναλύσεων συσχέτισης της έκφρασης των Ιντεγκρινών με κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του προστάτη. Με έντονη γραφή υποδεικνύονται τα στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα

	Αυξημένα κατά TNM στάδια (T3 or T4)			Ενδιάμεσο Gleason Score (7)			Υψηλό Gleason Score (8,9,10)		
	n <sup>§</sup>	OR (95%CI)	Ετερογένεια I <sup>2</sup> -p	n <sup>§</sup>	OR (95%CI)	Ετερογένεια I <sup>2</sup> -p	n <sup>§</sup>	OR (95%CI)	Ετερογένεια I <sup>2</sup> -p
<b>αδ</b>									
Συνολική	3	0.48 (0.22-1.03)	59.9%, 0.083	Only one study			3	<b>0.10 (0.04-0.28)</b>	67.4%, 0.047
Βασική	0	Καμία Μελέτη					0	Καμία Μελέτη	
Κυτταροπλασματική	0	Καμία Μελέτη					0	Καμία Μελέτη	
Μεμβρανική	2	<b>0.60 (0.38-0.94)</b>	7.6%, 0.298				2	<b>0.08 (0.02-0.39)</b>	81.9%, 0.019
Κυτταροπλασματική / Μεμβρική	1	<b>0.16 (0.05-0.54)</b>	NC				1	<b>0.16 (0.05-0.54)</b>	NC
Μη Προσδιορισμένο Κυτταρικό στοιχείο	0	Καμία Μελέτη					0	Καμία Μελέτη	
<b>β1</b>									
Συνολική	2	1.04 (0.66-1.65)	0.0%, 0.359	3	0.86 (0.50-1.47)	0.0%, 0.504	3	<b>0.45 (0.21-1.00)</b>	15.4%, 0.307
Βασική	0	Καμία Μελέτη		0	Καμία Μελέτη		0	Καμία Μελέτη	
Κυτταροπλασματική	0	Καμία Μελέτη		0	Καμία Μελέτη		0	Καμία Μελέτη	
Μεμβρανική	0	Καμία Μελέτη		1	0.89 (0.09-9.16)	NC	1	2.0 (0.18-22.06)	NC
Κυτταροπλασματική / Μεμβρική	2	1.04 (0.66-1.65)	0.0%, 0.359	2	0.77 (0.33-1.79)	26.9%, 0.242	2	<b>0.40 (0.21-0.78)</b>	0.0%, 0.377
Μη Προσδιορισμένο Κυτταρικό στοιχείο	0	Καμία Μελέτη		0	Καμία Μελέτη		0	Καμία Μελέτη	
<b>αν</b>									
Συνολική	Μόνο μία μελέτη			Μόνο μία μελέτη			2	0.75 (0.11-5.31)	0.0%, 0.944
Βασική							0	Καμία Μελέτη	
Κυτταροπλασματική							0	Καμία Μελέτη	
Μεμβρανική							0	Καμία Μελέτη	
Κυτταροπλασματική / Μεμβρική							2	0.75 (0.11-5.31)	0.0%, 0.944
Μη Προσδιορισμένο Κυτταρικό στοιχείο							0	Καμία Μελέτη	

**Πίνακας 3:** Εκτίμησης ποιότητας κατά Newcastle-Ottawa κλίμακα

Μελέτη	Αξιολόγηση κριτηρίων επιλογής ασθενών				Αξιολόγηση κριτηρίων συγκρισιμότητας		Αξιολόγηση καταληκτικού σημείου			Σύνολο
	Αντιπροσωπευτικότητα πληθυσμού	Επιλογή των μη-εκτεθειμένων	Εξακρίβωση έκθεσης	Καταληκτικό σημείο από κατά την έναρξη	Συγκρισιμότητα για την σταδιοποίηση	Συγκρισιμότητα για τους λοιπούς προγνωστικούς παράγοντες	Εκτίμηση Καταληκτικού σημείου	Επαρκής χρόνος ελέγχου (μέσο $\geq 5$ years)	Επάρκεια πληθυσμού (completeness $\geq 85\%$ κατά την τελική συγκέντρωση των αποτελεσμάτων)	
Altintas (2009)	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Ciardiello (2019)	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Pellinen (2018)	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Lu (2016)	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Drivalos (2015)	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Finetti (2015)	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Hess (2014), longitudinal	1	1	1	1	0	0	1	1	1	7
Hess (2014), cross-sectional	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
Hoogland (2013), longitudinal	1	1	1	1	0	0	1	1	1	7
Hoogland (2013) Cross-sectional	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5

<b>Ricci (2013), longitudinal</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
<b>Ricci (2013), cross-sectional</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
<b>Pontes-Júnior (2013)</b>	1	1	1	1	0	0	1	1	1	5
<b>Pontes-Júnior (2013) cross-sectional</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
<b>Lee (2013)</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
<b>Pontes-Júnior (2010), longitudinal</b>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
<b>Pontes-Júnior (2010), cross-sectional</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
<b>Schmelz (2002)</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
<b>Fornaro (1996)</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5
<b>Nagle (1995)</b>	1	1	1	1	0	0	1	N/A	N/A	5

N/A: Not Applicable (Μη εφαρμόσιμο)



## PRISMA 2009 Checklist

Πίνακας 4: Πρωτόκολλο κατά PRISMA

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
<b>TITLE</b>			
Title	p 1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	Σελ 1
<b>ABSTRACT</b>			
Structured summary	p 10	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	Σελ 10
<b>INTRODUCTION</b>			
Rationale	p 21	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	Σελ 21
Objectives	p 21	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	Σελ 21
<b>METHODS</b>			
Protocol and registration	p 21 section 2.1	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	Σελ 21
Eligibility criteria	p 21-23	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	Σελ 21-23
Information sources	Παράρτημα. Πίνακας 1 1	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	Παράρτημα. Πίνακας 1
Search	Σελίδα 21	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	Σελ 21
Study selection	24-25	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	Σελ 24,25
Data collection process	Εικόνα 1	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	Εικ. 1

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	Σελ 25
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	Σελ 26
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	Σελ 26
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I <sup>2</sup> ) for each meta-analysis.	Σελ 26,31
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	26
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	26
<b>RESULTS</b>			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	Εικόνα 4
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	Πίνακας 1 Παράρτημα
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	Πίνακας 3 Παράρτημα
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	Εικόνες 5-10 Πίνακας 2 Παράρτημα
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	Πίνακας 2 Παράρτημα
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	Πίνακας 3 Παράρτημα

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	Σελ 36-39
<b>DISCUSSION</b>			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	Σελ 40
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	Σελ 40-44
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	Σελ 45,46
<b>FUNDING</b>			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	Σελ 46